



## Über dieses Buch

Dies ist ein digitales Exemplar eines Buches, das seit Generationen in den Regalen der Bibliotheken aufbewahrt wurde, bevor es von Google im Rahmen eines Projekts, mit dem die Bücher dieser Welt online verfügbar gemacht werden sollen, sorgfältig gescannt wurde.

Das Buch hat das Urheberrecht überdauert und kann nun öffentlich zugänglich gemacht werden. Ein öffentlich zugängliches Buch ist ein Buch, das niemals Urheberrechten unterlag oder bei dem die Schutzfrist des Urheberrechts abgelaufen ist. Ob ein Buch öffentlich zugänglich ist, kann von Land zu Land unterschiedlich sein. Öffentlich zugängliche Bücher sind unser Tor zur Vergangenheit und stellen ein geschichtliches, kulturelles und wissenschaftliches Vermögen dar, das häufig nur schwierig zu entdecken ist.

Gebrauchsspuren, Anmerkungen und andere Randbemerkungen, die im Originalband enthalten sind, finden sich auch in dieser Datei – eine Erinnerung an die lange Reise, die das Buch vom Verleger zu einer Bibliothek und weiter zu Ihnen hinter sich gebracht hat.

## Nutzungsrichtlinien

Google ist stolz, mit Bibliotheken in partnerschaftlicher Zusammenarbeit öffentlich zugängliches Material zu digitalisieren und einer breiten Masse zugänglich zu machen. Öffentlich zugängliche Bücher gehören der Öffentlichkeit, und wir sind nur ihre Hüter. Nichtsdestotrotz ist diese Arbeit kostspielig. Um diese Ressource weiterhin zur Verfügung stellen zu können, haben wir Schritte unternommen, um den Missbrauch durch kommerzielle Parteien zu verhindern. Dazu gehören technische Einschränkungen für automatisierte Abfragen.

Wir bitten Sie um Einhaltung folgender Richtlinien:

- + *Nutzung der Dateien zu nichtkommerziellen Zwecken* Wir haben Google Buchsuche für Endanwender konzipiert und möchten, dass Sie diese Dateien nur für persönliche, nichtkommerzielle Zwecke verwenden.
- + *Keine automatisierten Abfragen* Senden Sie keine automatisierten Abfragen irgendwelcher Art an das Google-System. Wenn Sie Recherchen über maschinelle Übersetzung, optische Zeichenerkennung oder andere Bereiche durchführen, in denen der Zugang zu Text in großen Mengen nützlich ist, wenden Sie sich bitte an uns. Wir fördern die Nutzung des öffentlich zugänglichen Materials für diese Zwecke und können Ihnen unter Umständen helfen.
- + *Beibehaltung von Google-Markenelementen* Das "Wasserzeichen" von Google, das Sie in jeder Datei finden, ist wichtig zur Information über dieses Projekt und hilft den Anwendern weiteres Material über Google Buchsuche zu finden. Bitte entfernen Sie das Wasserzeichen nicht.
- + *Bewegen Sie sich innerhalb der Legalität* Unabhängig von Ihrem Verwendungszweck müssen Sie sich Ihrer Verantwortung bewusst sein, sicherzustellen, dass Ihre Nutzung legal ist. Gehen Sie nicht davon aus, dass ein Buch, das nach unserem Dafürhalten für Nutzer in den USA öffentlich zugänglich ist, auch für Nutzer in anderen Ländern öffentlich zugänglich ist. Ob ein Buch noch dem Urheberrecht unterliegt, ist von Land zu Land verschieden. Wir können keine Beratung leisten, ob eine bestimmte Nutzung eines bestimmten Buches gesetzlich zulässig ist. Gehen Sie nicht davon aus, dass das Erscheinen eines Buchs in Google Buchsuche bedeutet, dass es in jeder Form und überall auf der Welt verwendet werden kann. Eine Urheberrechtsverletzung kann schwerwiegende Folgen haben.

## Über Google Buchsuche

Das Ziel von Google besteht darin, die weltweiten Informationen zu organisieren und allgemein nutzbar und zugänglich zu machen. Google Buchsuche hilft Lesern dabei, die Bücher dieser Welt zu entdecken, und unterstützt Autoren und Verleger dabei, neue Zielgruppen zu erreichen. Den gesamten Buchtext können Sie im Internet unter <http://books.google.com> durchsuchen.

UC-NRLF



B 3 789 150















**Z** **CENTRALBLATT**

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten.

---

**Erste Abteilung. XLI. Band.**

**Originale.**





**ZENTRALBLATT**  
für  
**Bakteriologie, Parasitenkunde  
und Infektionskrankheiten.**

---

In Verbindung mit

**Geh. Med.-Rat Professor Dr. Loeffler**  
in Greifswald,

**Professor Dr. R. Pfeiffer**  
in Königsberg  
und

**Staatsrat Professor Dr. M. Braun**  
in Königsberg

herausgegeben von

**Prof. Dr. Oscar Uhlworm in Berlin.**

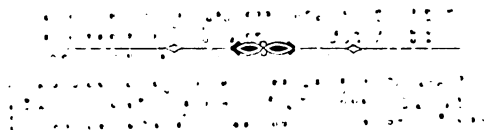
---

Erste Abteilung. **XLI. Band.**

**Medizinisch-hygienische Bakteriologie und tierische Parasitenkunde.**

**Originale.**

Mit 12 Tafeln und 114 Abbildungen im Texte.



**Jena,**  
**Verlag von Gustav Fischer.**  
1906.

Digitized by Google



## Beiträge zur Kenntniss der anaëroben Bakterien des Menschen.

[Aus dem pathologisch-anatomischen Institute in Wien (Vorstand: Prof. Dr. A. Weichselbaum).]

### IV. Zur Aetiologie der akuten Meningitis.

Von Prof. Dr. A. Ghon, Dr. V. Mucha und Dr. R. Müller.

Mit 2 Tafeln und 5 Textfiguren.

Die akute Entzündung der Hirnhäute hat keine einheitliche Aetiologie. Wir wissen heute, daß es viele Mikroorganismen gibt, die eine akute Entzündung der Hirnhäute hervorrufen können. Die Bakterienarten, die dabei in Frage kommen, sind jedoch nicht gleich häufig zu finden. Meist spielen auch hier unsere gewöhnlichen Eitererreger die Hauptrolle, vor allem der *Diplococcus pneumoniae*. Eine besondere Stellung nimmt unter den Erregern der Meningitis der *Diplococcus intracellularis meningitidis* Weichselbaum ein, als Ursache einer epidemisch und sporadisch auftretenden Form von Cerebrospinalmeningitis.

Weichselbaum<sup>1)</sup> hat in seinem Aufsätze über den *Micrococcus meningitidis cerebrospinalis* im Handbuche von Kolle und Wassermann eine Uebersicht jener Bakterien gegeben, die bisher als Ursache der akuten Meningitis gefunden wurden. Unter den Bakterien, die zu den selteneren Erregern der genannten Krankheit gehören, findet sich auch der *Bacillus* von Welch-Fraenkel genannt, das einzige obligat anaërobe Bakterium, das bisher als Ursache akuter Hirnhautentzündung einige Bedeutung erlangt hat. Die Angaben in dem Aufsätze von Weichselbaum beziehen sich auf den Fall, den Hirschmann und Lindenthal<sup>2)</sup> aus dem Wiener pathologischen Institute veröffentlicht haben:

Einem 40-jährigen Manne war während der Arbeit ein über faustgroßer Stein auf den Kopf gefallen (Juni 1896). Die dadurch erzeugte Rißwunde reichte bis auf den Knochen. 3 Tage später begannen Symptome einer Meningitis, die rasch zum Tode führte. Die Sektion, 20 Stunden post mortem ausgeführt, ergab folgenden Befund: Im Gesichte, am Halse, an der Brust, am Abdomen und an den unteren Extremitäten Gasemphysem. An der linken Hirnhemisphäre unter der Dura ein mantelartig aufgelagerter Blutkuchen, die inneren Hirnhäute an der Konvexität beider Hemisphären in reichlicher Menge von eiterigem Exsudat durchsetzt. Die linke Kleinhirnhemisphäre zum Teil zertrümmert. In den inneren Hirnhäuten an der Basis, besonders um das Chiasma, dünner Eiter, der leicht hämorrhagisch gefärbt war. Stellenweise Gasblasen im Eiter und in den inneren Hirnhäuten. In den Ventrikeln Eiter. Die gleichen Veränderungen wie an den Hirnhäuten auch an den inneren Rückenmarkshäuten. An der Hinterhauptschuppe eine unregelmäßig verlaufende Splitterfraktur.

In den inneren Organen der Befund typischer Schaumorgane.

Als auffällig wurde von den Autoren in diesem Falle die Beschaffenheit des Hirnhautexsudates bezeichnet, das dünnflüssig, fleischwasserartig und von Gasblasen durchsetzt war.

Sowohl die mikroskopische als auch die kulturelle Untersuchung des Exsudates hatte die ausschließliche Anwesenheit einer Bacillenart ergeben, die von den Autoren

1) Weichselbaum, A., Handb. d. pathogenen Mikroorganismen von Kolle und Wassermann. Jena 1903.

2) Hirschmann, F. u. Lindenthal, O. Th., Ueber die Gangrène foudroyante. (Sitzungsber. d. kais. Akad. d. Wissensch. in Wien. 1899.)

mit dem Anaërobion von Welch-Fraenkel identifiziert werden konnte. Der gleiche Bacillus war auch in den Schaumorganen nachzuweisen.

Die histologische Untersuchung bestätigte den Befund der akuten Hirnhautentzündung. Das Exsudat war zusammengesetzt aus polynukleären Leukocyten, deren Kerne zum Teil schlecht oder gar nicht gefärbt waren, Fibrinnetzen und serösen Massen. Auch in den Schnittpräparaten konnten andere Bakterien als die schon in den Deckglaspräparaten gesehenen nicht gefunden werden. Ueberall, wo entzündliche Veränderungen der Hirnhäute nachweisbar waren, fanden sich auch in zahlreicher Menge die grampositiven, plumpen Stäbchenformen, im Gehirn selbst dagegen fehlten sie.

Eine subdurale Injektion von einer anaëroben Bouillonkultur erzeugte bei einem Meerschweinchen Krämpfe und Tod nach 24 Stunden. Unter der Dura fand sich blutig-seröses Exsudat, die inneren Hirnhäute waren stark injiziert. Im Exsudat ließ sich mikroskopisch und kulturell reichlich der anaërobe Bacillus nachweisen.

Nach Ansicht der Autoren ließ der pathologisch-anatomische und histologisch-bakteriologische Befund mit Sicherheit den Gedanken zurückweisen, daß noch andere als die nachgewiesenen Bakterien vorhanden gewesen, aber zu Grunde gegangen und so dem Nachweis entgangen waren. Die Annahme einer postmortalen Einwirkung des nachgewiesenen Anaërobion widerlegten die Anzahl und Verteilung der Bacillen in dem entzündlich veränderten Gewebe.

Die Beobachtung von Hirschmann und Lindenthal erfüllt alle Forderungen eines genau untersuchten Falles und ist die erste Mitteilung über den exakten Nachweis eines anaëroben Bakteriums als Ursache einer akuten Hirnhautentzündung.

Im gleichen Jahre und nur um ein Geringes später war die Mitteilung von Howard<sup>1)</sup> erschienen, der gleichfalls den Bacillus von Welch-Fraenkel bei einer eiterigen Meningitis nachweisen konnte.

Ein 31-jähriger Mann bekam (August 1897) nach einer Gonorrhöe eine schmerzvolle Anschwellung am Perineum. 6 Monate nachher perforierte die Anschwellung unter Entleerung von Eiter, worauf an dieser Stelle eine Urinfistel zurückblieb. 3 Monate danach hatte sich am gleichen Punkte eine neue Schwellung gebildet, die nach Entleerung von Eiter heilte und verschwand. Die Fistel wurde unter den nötigen Kautelen ausgekratzt und in die Urethra ein Katheter eingeführt.

Einige Tage nach diesem Eingriffe zeigte der Patient Symptome von Meningitis, die Temperatur stieg bis 105° F und schon in der Nacht auf den 29. März (1898) starb der Mann.

Die Leiche wurde wenige Minuten nach dem Tode in einen kühlen Raum von 37° F gebracht und schon 10 Stunden post mortem seziiert.

Der Befund war folgender:

Kein Oedem und kein Gas im subkutanen Gewebe. In der Beckenhöhle eine geringe Menge blutig-tingierter Flüssigkeit mit wenigen Gasblasen. Aus den Lungen- und Lebergefäßen Gasblasen ausdrückbar. Zerstreut über die Leber zahlreiche kleine, opake Herde von der Größe eines Stecknadelkopfes. Urethra ohne Striktur, die Perinealwunde geheilt, ohne Residuen von Eiter und ohne Gasblasen. In den Hirnsinus dunkles, flüssiges Blut mit Gasblasen. In den inneren Hirnhäuten der Konvexität eine Anzahl kleiner fibrinöser Exsudatherde. An der Hirnbasis dickes, gelbes, eiterig-fibrinöses Exsudat. Ueber der Sylvischen Furche der linken Hirnhälfte ein Absceß mit weichen, nekrotischen Rändern und einem Durchmesser von 0,5—2,0 cm. In der Nähe des Abscesses an einer Stelle eine Anzahl von Hohlräumen bis zu 5 mm im Durchmesser. In der linken oberen Temporalwindung ein zweiter Absceß mit weichen nekrotischen Rändern und unregelmäßiger Umgrenzung, seine Höhle erfüllt von halbfüssigen nekrotischen Massen, sein Durchmesser bis zu 1,5 cm. Beide Abscesse in Verbindung mit dem linken Seitenventrikel. Im Linsenkern der linken Seite eine Anzahl kleiner Gascysten, ebenso in der inneren Kapsel. Die rechte Hirnhemisphäre, das Kleinhirn, die Brücke und Medulla ohne Veränderungen. In den Gefäßen der inneren Rückenmarkshäute Gasblasen.

Die mikroskopische und kulturelle Untersuchung des Blutes aus der Lunge und dem Herzen, der V. cava inferior und der V. portae, der Beckenvenen, der Milz und Nieren sowie der Leber und des Gehirnexsudats (Absceß- und Meningealexsudat) ergab

1) Howard, W. T., Acute fibrino-purulent Cerebrospinal-Meningitis etc. (Bull. of the Johns Hopkins Hospital. Vol. X. 1899.)

in großer Anzahl und ausschließlich eine Bacillenart, die mit den Stäbchen von Welch-Fraenkel identifiziert wurde. Alle aeroben Kulturen blieben steril.

„Careful study of the meningeal exsudate failed to demonstrate the presence of any other bacteria.“

Auch die histologisch-bakteriologische Untersuchung der Gehirnbräuse und des meningealen Exsudats ließ nur die Bacillenart nachweisen, die in den Deckglaspräparaten gesehen worden war.

Howard betrachtet es als sicher, daß die entzündlichen Veränderungen des Gehirns sowie die Gascysten in diesem Organe durch den Bacillus von Welch-Fraenkel erzeugt worden sind. Auch er glaubt ausschließen zu können, daß etwa gewöhnliche Eiterkokken die Veränderungen bedingt hätten, aber abgestorben wären, bevor der Fall zur bakteriologischen Untersuchung gekommen war. Die Gascysten im Gehirn und in der Leber will Howard jedoch als wahrscheinlich post-mortale Produkte auffassen.

Die Untersuchung von Howard ist bakteriologisch unanfechtbar und somit liegt kein Grund vor, an der ätiologischen Bedeutung des Bacillus von Welch-Fraenkel für die Abscesse und für die Leptomeningitis in dem Falle von Howard zu zweifeln. Unbewiesen erscheint in diesem Falle nur die Annahme, daß die Perinealfistel die Eingangspforte für die Infektion abgegeben habe.

Die zwei mitgeteilten Fälle haben bisher die einzigen genaueren Mitteilungen über akute Hirnhautentzündungen durch anaërobe Bakterien, die uns bekannt geworden waren.

Angaben darüber, daß anaërobe Bakterien bei der Meningitis eine Rolle spielen, finden wir schon in der so verdienstvollen Arbeit von Rist<sup>1)</sup> über die Infektionen otitischen Ursprungs aus dem Institute von Grancher in Paris. Im Anschlusse an eine Reihe anderer Arbeiten, die in dem genannten Institute über Entzündungsprozesse gangränöser und fötider Natur gemacht wurden, untersuchte Rist eine Anzahl von Fällen chronischer Otorrhöen, akuter nicht komplizierter Mastoiditiden und Ohreiterungen, kompliziert durch Infektionen der Nachbarschaft oder durch gangränöse Septikämien (*Suppurations otiques compliquées d'infections de voisinage ou de septicémies gangréneuses*).

Zu der letztgenannten Gruppe gehören seine Beobachtungen X–XV, bei denen unter anderen Komplikationen mehrmals Gehirnbräuse vermerkt werden. Auf gewisse Resultate seiner interessanten bakteriologischen Untersuchungen müssen wir an anderer Stelle eingehen, hier sei hervorgehoben, daß Rist nur in seiner Beobachtung X einer eiterigen Meningitis Erwähnung macht im Anschlusse an eine eiterige Mastoiditis mit Phlebitis des Sinus lateralis und multipler gangränöser Lungeninfarkte.

„Après enlèvement de la calotte crânienne, on trouve le cerveau très congestionné, sillonné à sa surface de veines gorgées de sang . . . Au contact du rocher, on trouve à la surface du lobe temporo-sphénoïdal une petite plaque de méningite circonscrite, grande comme une pièce de 2 francs, avec exsudat purulent. Pas d'abcès encéphalique.“

Zur bakteriologischen Untersuchung gelangten: Eiter der Mastoiditis, Exsudat der gangränösen Lungenherde, Herzblut und Exsudat der Meningen. Dieser Fall war gerade der erste der Untersuchungen und fiel in eine Zeit, in der die anaërobe Kulturtechnik noch nicht beherrscht

1) Rist, E., *Études bactériologiques sur les infections d'origine otique*. Paris 1898. — Neue Methoden und neue Ergebnisse im Gebiete der bakteriologischen Untersuchung gangränöser und fötider Eiterungen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXX. 1901.)



wurde. Wir finden über die Untersuchungsergebnisse dieses Falles folgenden verzeichnet:

„Le pus mastoïdien, examiné sur lamelles, contenait un nombre énorme de bactéries variées: de petits bacilles courts, des bacilles fusiformes, ou filamenteux, ou incurvés, des cocci en chaînettes, des spirochaetes. Le sang du coeur, l'exsudat méningé, les foyers pulmonaires contenaient des formes moins nombreuses; un bacille-virgule et un bacille fusiforme s'y trouvaient associés à un diplocoque gardant le Gram. Les cultures sur agar incliné donnèrent du streptocoque pyogène. Les cultures en agar sucré en profondeur nous firent constater la présence d'un grand nombre d'espèces strictement anaérobies, dont plusieurs présentaient des formes analogues à celles qu'on avait observées dans les différents liquides ensemencés, mais dont aucune ne put être isolée.“

In jüngster Zeit endlich hat Moser<sup>1)</sup> in der Gesellschaft für innere Medizin und Kinderheilkunde in Wien einen Fall von akuter eiteriger Cerebrospinalmeningitis vorgestellt, die durch ein Bakterium verursacht war, das nach seinen kulturellen Eigenschaften zunächst als ein anaërobes angesprochen werden mußte.

Ein 10 Monate altes Kind erkrankte 9 Tage vor seinem Tode mit Fieber und Husten. Schon am 2. Krankheitstage ließen sich pneumonische Herde nachweisen, dazu gesellten sich Herpes labialis und Pemphigusblasen am Rumpfe, später Opisthotonus und Nackenstarre, so daß die Diagnose auf Meningitis cerebrospinalis gestellt werden konnte. Die Spinalpunktion ergab trüben Liquor, der zahlreiche polynukleäre Leukocyten nachweisen ließ, und sehr reichlich gramnegative Stäbchen, etwas größer als Influenzabacillen. Die auf der pädiatrischen Klinik (Prof. Dr. Escherich) vorgenommene Züchtung des Liquor auf Nährböden, die für die Kultivierung des Influenzabacillus verwendet werden, hatte kein Resultat.

Die Obduktion (Dr. A. Ghon) ergab eine ausgebreitete fibrinös-eiterige Leptomeningitis der Konvexität und Basis des Gehirns, in der die gleichen Bacillen nachgewiesen wurden wie in der Spinalflüssigkeit. Die Kultivierung der Stäbchen gelang zunächst nur unter anaëroben Bedingungen. Später stellte es sich jedoch heraus, daß der Bacillus auch auf bluthaltigen Nährmedien unter aëroben Verhältnissen wuchs. Das Stäbchen war demnach kein obligates Anaërobion.

Der Fall wird ausführlich an anderer Stelle veröffentlicht werden.

\* \* \*

Seit längerer Zeit wird im Wiener pathologischen Institute der Aetiologie der akuten Hirnhautentzündung besondere Aufmerksamkeit geschenkt. Wir haben dabei Gelegenheit gehabt, unter den vielen untersuchten Fällen auch solche anzutreffen, die durch anaërobe und zwar obligat anaërobe Bakterien hervorgerufen waren.

Diese Fälle verdienen schon an und für sich Interesse, da ihrer nicht zu viele genauer untersucht sind, insonderheit aber auch deshalb, weil sie uns Gelegenheit gegeben haben zur Auffindung neuer anaërober Arten, die allem Anscheine nach bisher noch nicht gekannt waren. Sie zeigen uns aber auch wieder, daß unsere Kenntnisse über die Aetiologie der Meningitis — sowie auch anderer Entzündungsprozesse — noch keineswegs abgeschlossen sind.

Im folgenden erlauben wir uns 4 dieser Fälle etwas ausführlicher mitzuteilen.

Auf den an erster Stelle angeführten Fall hat Weichselbaum<sup>2)</sup> in seinem oben erwähnten Aufsätze bereits hingewiesen.

### Fall I.

Die 56 Jahre alte A. Z. wurde am 14. April 1902 auf die IV. medizinische Abteilung des k. k. allgemeinen Krankenhauses (Prof. Dr. Kovács) im moribunden Zustande eingebracht und starb unmittelbar nach ihrer Aufnahme.

1) Moser, P., Mitteil. d. Gesellsch. f. innere Med. u. Kinderheilk. in Wien. 1905. No. 4.

2) l. c.

Die am 15. April vorgenommene Sektion (Dr. O. Stoerk) ergab folgenden Befund:

Eiterige Meningitis im Bereiche der rechten hinteren Schädelgrube nach Otitis media mit Fortsetzung der Eiterung auf das innere Ohr und eiterige Entzündung der Weichteile des inneren Gehörganges. Erysipel an der linken Ohrmuschel. Subakuter Milztumor. Trübe Schwellung der Parenchyme.

Der Sinus sigmoideus, sowie die Vena jugularis interna der rechten Seite enthielten flüssiges Blut; der absteigende Teil des Facialiskanales war frei von entzündlichen Veränderungen.

Das Exsudat war vorwiegend ein eiteriges, zeigte eine gelbliche Farbe und hatte keinen üblen Geruch.

### Bakteriologischer Befund des Gehirnexsudates.

Deckglaspräparate (Taf. I, Fig. 1) zeigten in sehr reichlicher Menge und ausschließlich gramnegative Bacillen. Die Länge und Dicke dieser Bacillen war eine ungleichmäßige. Vorherrschend waren kleine Bacillen etwa von der Größe des Influenzabacillus, im allgemeinen blaß gefärbt; daneben gab es ganz kurze, fast kokkenähnliche sowie ziemlich lange, schmale, aber ebenfalls blaß gefärbte Formen. Manche dieser blaß gefärbten Exemplare erschienen deutlich bipolar tingiert. Spärlicher fanden sich gut tingierte Formen, die abgerundete Enden zeigten. Ab und zu sah man auch kurze, ungegliederte, meist gebogene Fäden, manchmal ungleichmäßig dick. Die Bacillen lagen vorwiegend extracellulär, nicht selten als Diplobacillen. Man traf sie aber auch in den Eiterzellen und dann waren sie meist klein und oft schon undeutlich in ihren Konturen. Zwischen allen hier beschriebenen Formen gab es fließende Uebergangsbilder, so daß schon mikroskopisch die Einheitlichkeit der Bacillen außer Frage stand.

Andere Bakterien fanden sich in den Deckglaspräparaten nicht vor.

Kulturen: Da dem mikroskopischen Befunde nach zunächst an Influenzabacillen gedacht wurde, kultivierten wir das Exsudat nicht bloß auf Agarplatten, sondern auch auf Pfeifferschem Nährboden unter gleichzeitiger Beschickung mit *Staphylococcus pyogenes*. Nachdem nach 24-stündigem Aufenthalt bei 37° C noch alle Kulturen steril geblieben waren, wurden von dem inzwischen im Eiskasten unter sterilen Kautelen verwahrten Exsudate neue Aussaaten gemacht und zwar auf Agar, Blutagar (mit *Staphylococcus pyogenes* beschickt) und Serumagar, außerdem für anaërobe Kulturen auf Zuckeragarplatten unter Wasserstoffatmosphäre sowie in Zuckeragarstich- und -schüttelkulturen mit Ueberschichtung.

Alle aëroben Kulturen blieben steril (Beobachtung durch 4 Tage), ebenso die anaëroben Plattenkulturen (Beobachtung durch 7 Tage). Einzige die in Traubenzuckeragar angelegten anaëroben Stich- und Schüttelkulturen zeigten nach ca. 5 Tagen nur in den untersten Partien der Röhren Wachstum. In den Schüttelkulturen erfolgte dieses in Form weniger, isoliert stehender, etwa stecknadelkopfgroßer und rundlicher Kolonien mit kleinsten Tochterkolonien in ihrer Umgebung, in den Stichkulturen in Form eines kurzen und zarten Bandes. In den folgenden Tagen gewann das Wachstum noch etwas an Ueppigkeit. Deckglaspräparate von den Kulturen zeigten einen einheitlichen Befund: Gleichmäßig gramnegative Bacillen, in ihrer Mehrzahl nach Form und Größe Influenzabacillen gleichend, daneben noch etwas längere und dickere Formen,

kurze Fäden, gerade oder gebogen, manchmal auch mit leichten Anschwellungen und endlich blaß gefärbte wie gebläht aussehende Formen. Daß alle diese Formen einer Art entsprachen, bewiesen die Uebergangsformen zwischen ihnen.

Die Weiterzüchtung der Kulturen gelang nur unter anaëroben Bedingungen und zeigte, daß die isolierten Bacillen tatsächlich nur einer Art angehörten.

Eine neue Kultivierung des aufbewahrten Exsudates am 27. April ergab kein Resultat: Sowohl die aëroben als auch die anaëroben Kulturen blieben steril (Beobachtung durch 13 Tage).

### Histologisch-bakteriologischer Befund des Gehirns.

Im Subarachnoidalraum fanden sich in reichlicher Menge polynukleäre Leukocyten und zwischen ihnen spärlich zarte Fibrinfasern. Die Leukocyten zeigten zum Teil Kernzerfall. In der Pia und in der Arachnoidea war die Zahl der eingelagerten Leukocyten merklich geringer, dafür aber fand sich reichlicher ein mehr oder weniger zartes Netzwerk von Fibrinfasern, in dessen Maschenräumen die Eiterkörperchen und ihre Kernreste lagen. Außerdem sah man in der Pia auch Blutungsherde von geringer Ausdehnung und braungelbes körniges Pigment. Die Blutgefäße der inneren Hirnhäute waren stark gefüllt und zeigten in ihrer adventitiellen Scheide, spärlicher in der Media, mehrkernige Leukocyten. An einzelnen Stellen sah man auch den inneren Hirnhäuten aufgelagert eiteriges Exsudat in verschieden breiter Schicht. Stellenweise konnte man auch in den obersten Schichten des Gehirns, im unmittelbaren Zusammenhange mit den exsudativen Veränderungen der Hirnhäute, dichte Ansammlungen mehrkerniger Leukocyten finden neben kleineren Blutungsherden.

In den mit Boraxmethylenblau tingierten Schnitten sah man in reichlichster Menge Bacillen. Sie lagen entweder gleichmäßig zerstreut in dem Exsudat, extra- oder intracellulär, oder aber zu kleineren und größeren Gruppen vereinigt (Taf. I, Fig. 2). Diese Bacillengruppen fanden sich vorwiegend an den Grenzen der encephalitischen Herde und in den Exsudatmassen des Subarachnoidalraumes. Die Größe und Form der Bacillen entsprach völlig jener in den Ausstrichpräparaten vom Exsudate. Vorherrschend waren auch hier die kleinen influenzaähnlichen Formen (Taf. I, Fig. 4). Die auch in den Deckglaspräparaten nachgewiesenen längeren und Uebergangsformen sah man in den Schnitten häufig innerhalb der Bacillenhaufen (Taf. I, Fig. 3).

Die nach den Methoden von Gram und Gram-Weigert gefärbten Schnitte zeigten keine Bacillen.

Andere Bakterien fanden sich in den Schnitten nicht.

### Morphologisches Verhalten.

Der Bacillus ähnelte in den Deckglaspräparaten aus dem Gehirn-exsudate dem Influenzabacillus (Taf. I, Fig. 1). Die Größe der Bacillen war eine verschiedene; im Durchschnitt betrug die Länge  $1,50\ \mu$  und die Breite ungefähr den 3.—4. Teil der Länge. Seltener fanden sich längere Formen, um so häufiger kürzere, vielfach fast kokkenähnlich. Die Bacillen waren an den Enden abgerundet, an den seitlichen Flächen manchmal leicht ausgebaucht und zeigten dann eine kurz-ovale Form. Auch kürzere Fäden fanden sich in den Ausstrichpräparaten des Gehirn-

exsudates. Sie waren gerade oder gekrümmt, dabei ungegliedert. Eine bestimmte Lagerung zueinander ließen die Bacillen nicht erkennen; manchmal sah man sie als Diplobacillen.

Die Größen- und Formverschiedenheiten in den Ausstrichpräparaten vom Gehirnexsudate bewegten sich innerhalb gewisser Grenzen, ähnlich wie beim Influenzabacillus.

Die Aehnlichkeit mit dem Influenzabacillus trat auch im Tierkörper zu Tage. Die Deckglaspräparate von den subkutanen Infiltraten beim Meerschweinchen zeigten durchwegs kleine Formen ganz gleich jenen im Exsudate der Hirnhäute.

Auch in den Kulturen fanden sich diese kleinen, influenzaähnlichen Formen, besonders in den ersten Generationen und in jungen Kulturen, am schönsten und gleichmäßigsten in Serumkulturen (Hydrokelen- oder Ascitesflüssigkeit) (Taf. I, Fig. 5). In Zuckeragarkulturen war der Formenreichtum in den ersten Generationen ein etwas größerer. Die Länge und Dicke der Bacillen variierten mehr, die Fadenbildung war eine reichlichere, dazu zeigten alle diese Formen häufig Anschwellungen an den Enden. Die Bacillen und Fäden waren nicht selten mehr oder weniger stark gekrümmt, so daß manchmal auch vibrionenähnliche Formen zustande kamen. Dieser größere Formenreichtum, der ja auch dem Influenzabacillus in den Kulturen eigen ist, verlor sich aber in den späteren Generationen mehr und mehr, die Bacillen erhielten ein gleichmäßiges Aussehen, erschienen aber im allgemeinen etwas plump. Es machte vielfach den Eindruck, als ob sich die Bacillen aufgebläht hätten (Taf. I, Fig. 6 u. 7).

Junge Kulturen der späteren Generationen — Kulturen von 24 Stunden — zeigten kleine, kurz-ovale, ziemlich gleichmäßige Formen, seltener schöne Bacillentypen. Aber schon in 48-stündigen Kulturen fand man größere Formen, oval oder als typische Stäbchen, wie gebläht, daneben kürzere, meist ungegliederte Fäden. Diese Formen erhielten sich lange und konnten auch in Kulturen, die mehr als 2 Jahre alt waren, noch wohl erhalten angetroffen werden. Es erschien fast als Eigentümlichkeit dieses Bakteriums, daß sich seine Formen im allgemeinen gut erhielten und sich nicht zu detritusähnlichen, unkenntlichen Massen umwandelten.

Die Zahl der Fäden nahm in manchen Kulturen zu. Gleichzeitig wurden sie dann länger, manchmal bis 80  $\mu$  und darüber lang, waren dabei verschieden und ungleich dick, gerade, gebogen oder verschlungen, manchmal wie in Zerfall begriffen. Die Fäden waren fast durchwegs ungegliedert, selten gegliedert.

Die Art des zur Kultur verwendeten Nährbodens war für das morphologische Verhalten insofern von Einfluß, als sich in serumhaltigen Nährböden — wie schon erwähnt — die kleinen, influenzaähnlichen Formen bildeten und auch erhielten. In älteren Serumkulturen war die Kleinheit der Formen oft besonders auffallend (Taf. I, Fig. 5). Man sah manchmal Formen so klein wie beim *Micrococcus parvulus*. In den anderen Nährböden zeigten die Bacillen keine Abweichungen von den bisher beschriebenen Formen.

Das Alter der Kulturen beeinflußte das Aussehen der Bacillen nicht wesentlich. Die Fadenbildung war sicher nicht dem höheren Alter der Kulturen proportional.

Eine Beeinflussung des morphologischen Verhaltens durch verschiedene Temperaturen war nicht nachweisbar. Die früher beschrie-

benen Formen erhielten sich gerade so gut, wenn die Kulturen bei 37° C, als wenn sie bei Zimmertemperatur oder im Eiskasten (5° C) gestanden waren.

Auch war es für das Aussehen der Bacillen gleichgültig, ob die Nährböden stärker oder schwächer alkalisch oder gar schwach sauer waren: Ein Unterschied war in den Formen nicht nachweisbar.

Verschiedene Zusätze zu den Nährböden, wie Neutralrot, indigoeschwefelsaures Natrium, Stärke etc., beeinflussten das Aussehen der Bacillen nicht.

Der Bacillus färbte sich mit den gebräuchlichen Farbstoffen ziemlich gut. Die Färbung war entweder eine gleichmäßige oder sehr häufig eine ausgesprochen bipolare. Dies Verhalten zeigten besonders die ovalen Formen. Die Ähnlichkeit mit Influenzabacillen wurde bei den kleineren Formen dadurch noch deutlicher. Größere ovale Formen erinnerten dann aber an Pestbacillen. Besonders schön kam die bipolare Färbung dann zum Ausdruck, wenn Präparate aus jungen (24-stündigen) Kulturen in Alkohol fixiert und mit verdünnter Boraxmethylenblaulösung gefärbt wurden. Die Färbung der Bacillen war nur in jungen Kulturen eine intensivere, in älteren Kulturen war sie meist eine blasser, erhielt sich dann aber in dieser Stärke auch noch in jahrealten Kulturen. Die Färbung der Bacillen wurde nicht dadurch beeinflusst, daß Kulturen bei höherer (37° C) oder niedriger (5° C) Temperatur aufbewahrt wurden.

Bei Anwendung der Färbungsmethode von Gram entfärbte sich der Bacillus stets gleichmäßig rasch. Er war also gramnegativ und zeigte dieses Verhalten sowohl im Gewebe als auch in allen Kulturen.

In Lugolscher Lösung oder in Jodgummi erschienen die Bacillen immer hellgelb. Niemals zeigte sich Braun- oder Blaufärbung, auch nicht in Präparaten von Stärkeagarkulturen. Die Formen der Bacillen kamen in diesen Präparaten besonders deutlich zum Ausdruck und es soll hier hervorgehoben werden, daß man gerade bei alten Kulturen den Wert dieser Darstellungsmethode schätzen lernte.

Der Bacillus bildete keine Sporen und zeigte keine Beweglichkeit. Die Versuche, Geißeln nachzuweisen, schlugen deshalb auch alle fehl.

Kapseln konnten mit Hilfe der gebräuchlichen Methode für die Darstellung dieser Gebilde nicht nachgewiesen werden. Dagegen sah man in den mit Jodgummi oder Lugolscher Lösung hergestellten Präparaten häufig einen deutlichen, gut abgegrenzten Hof um die Bacillen.

### Kulturelles und biochemisches Verhalten.

Der Bacillus ist ein obligat anaerobes Bakterium. Alle Versuche, den Bacillus aerob zum Wachstum zu bringen, schlugen fehl. Dieses Verhalten hatte sich bis heute, trotzdem der Bacillus durch mehr denn 2 Jahre fortgezüchtet worden war, nicht geändert.

Oberflächenkolonien in Platten mit Traubenzuckeragar waren nur sehr schwer zu erhalten und zeigten uncharakteristische, zarte Rasen in den ersten Strichen, schleier- oder hauchartig, grau glänzend. Etwas besser waren diese Rasen mit der Lupe zu sehen. Bei mikroskopischer Betrachtung (schwacher Vergrößerung) erschienen sie gleichmäßig fein granuliert, unscharf und undeutlich begrenzt. Bei stärkerer Vergrößerung (Zeiss, Ok. 4, Obj. C) konnte man an den Randpartien der Rasen die regellos gelagerten Bacillenformen erkennen.

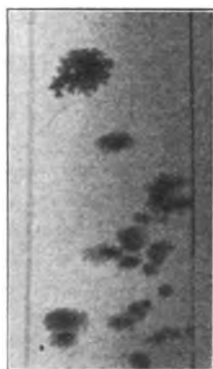
Schüttelkulturen in Agar mit 1—2 Proz. Traubenzucker zeigten verschieden große Kolonien. Je dichter die Aussaat war, um so kleiner und gleichzeitig scheibenförmiger erschienen die Einzelkolonien. Bei entsprechender Verdünnung konnten die gut isolierten Kolonien bis Hanfkorngröße erreichen. Fast immer hatten sie dann auch die Form eines Hanfkornes oder sie waren mehr rundlich. Ihre Umgrenzung war stets eine scharfe, ihre Farbe eine weißlich-graue.

Niemals sahen wir in Schüttelkulturen Gasbildung, auch dann nicht, wenn die Aussaat eine sehr dichte war.

Stichkulturen in Agar mit Zusatz von 1—2 Proz. Traubenzucker zeigten Wachstum entlang dem Impfstiche in Form eines gleichmäßig aussehenden grauweißen Bandes, wenn die Aussaat eine reichliche war. War sie eine entsprechend verdünnte und fanden sich isolierte Kolonien (Textfigur 1), so erreichten diese einen Durchmesser



Fig. 1.

Fig. 2  
(4-fach vergrößert).

von 1—1,5 mm, waren flach und hatten ausgefrante oder zart gebuchtete Ränder (Textfigur 2). Bei Lupenvergrößerung erschien das Zentrum der Kolonie ziemlich opak und etwas bräunlich, die Peripherie durchscheinend grau.

Niemals erfolgte Gasbildung.

Waren Stichkulturen nicht überschichtet, so begann die Entwicklung immer erst ca. 1,5 cm unterhalb der Oberfläche.

In Agar ohne Zuckerzusatz war das Aussehen der Stichkulturen ein dem eben beschriebenen ähnliches, nur weniger üppig.

Auch in Agar mit Zusatz von 2 Proz. Rohr- oder Milhzucker wich das Aussehen der Kulturen nicht ab von dem in Traubenzuckeragar, nur schien es uns, als ob die Entwicklung in Trauben- und Rohrzuckeragar üppiger erfolgte als in Milhzuckeragar.

Gasbildung war auch in diesen Nährböden niemals nachzuweisen.

Stichkulturen in Blutagar zeigten ziemlich gutes Wachstum ohne Veränderung der Farbe des Nährbodens und ohne Gasbildung.

Kulturen in Gelatine mit 1 Proz. Traubenzucker, die, mit Agar überschichtet, bei 37° C gestanden waren, ließen nach 24—48 Stunden

zunächst eine zarte, diffuse oder mehr wolkige Trübung erkennen, der ein flockiger Niederschlag folgte. Dieser hielt sich zunächst in der flüssig gewordenen Gelatine schwebend, schlug sich aber bald als ein nicht sehr reichlicher Satz nieder, während der Nährboden klar wurde. Gasbildung erfolgte niemals.

Auch wenn die Kulturen durch längere Zeit im Brutofen stehen geblieben waren, erstarrten sie rasch, wenn man sie in kaltes Wasser stellte.

Bei 21° C erfolgte Entwicklung in Traubenzuckergelatine entweder gar nicht oder nur sehr langsam und kümmerlich. Selbst nach 4 bis 6 Wochen und darüber konnte man nicht viel mehr als eine zarte wolkige Trübung erkennen, wenn Schüttelkulturen angelegt wurden und die Aussaat eine dichte war. Zur Entwicklung deutlich erkennbarer Einzelkolonien kam es auch nach Wochen nicht.

Auch Stichkulturen mit reichlicher Aussaat zeigten in der angegebenen Zeit nicht viel mehr als eine eben erkennbare Trübung in den tieferen Stichpartieen.

Verflüssigung und Gasbildung fehlten.

Eine Färbung des Nährbodens erfolgte niemals.

In Gelatine ohne Zuckerzusatz war die Entwicklung viel dürftiger und bei 21° C auch nach vielen Wochen nicht nachweisbar.

In Zuckerfleischbrühe (1 Proz. Traubenzucker) zeigte sich schon nach 24 Stunden eine diffuse, mäßig üppige Trübung, die während der nächsten Tage noch deutlicher wurde. Die Trübung blieb durch einige Zeit bestehen und klärte sich niemals vollständig. Immer erst nach mehreren Tagen wurde ein mäßig reichlicher, feinkörniger Bodensatz sichtbar. Gasbildung konnten wir in den Kulturen niemals nachweisen.

In Fleischbrühekulturen (ohne Zusatz von Zucker) war das Wachstum geringer als in Zuckerfleischbrühekulturen, im übrigen aber diesem ähnlich.

In Fleischbrühe, der Rohr- oder Milchzucker in Mengen von 2 Proz. zugesetzt war, entstand in ähnlicher Weise wie in Traubenzuckerfleischbrühe eine diffuse Trübung, der später die Entwicklung eines feinen Bodensatzes folgte. Gasbildung konnte auch in diesen Kulturen niemals beobachtet werden.

Peptonwasserkulturen ließen nur ein sehr dürftiges Wachstum erkennen. Gasbildung fehlte.

In eiweißfreien Nährböden nach Uschinsky blieb jegliche Entwicklung aus, auch dann, wenn dieser Nährlösung 2 Proz. Traubenzucker zugesetzt war.

Wurde jedoch der Lösung von Uschinsky Pepton zugesetzt (2 Proz.), so entstand eine leichte diffuse Trübung und ein dürftiger feiner Bodensatz, der im Deckglaspräparate zahlreiche typische Bacillenformen aufwies. Gasbildung erfolgte nicht.

Noch geringer war die Entwicklung des Bacillus, wenn der eiweißfreien Nährlösung 2 Proz. Mannit zugesetzt war.

Auf Kartoffeln, die unter Wasserstoffatmosphäre gehalten wurden, konnte mit bloßem Auge Wachstum nicht erkannt werden, doch zeigten Abstreifpräparate unzweifelhaft, daß die Bacillen sich vermehrt hatten.

In erstarrter Hydrokelen- und Ascitesflüssigkeit war die Entwicklung des Bacillus eine recht gute, häufig sogar üppige. Sie beschränkte sich auf den Stichkanal. War das Wachstum nicht in Form

eines gleichmäßigen Bandes erfolgt, sondern in Form isolierter Kolonien, so erreichten diese Hirsekorngröße und darüber, waren grau-weißlich und ziemlich scharf begrenzt.

Gasbildung und Verflüssigung des Nährbodens erfolgten niemals. Auch war niemals eine Färbung des Nährbodens in der Umgebung des Impfstiches nachzuweisen. Unsere Beobachtungen dieser Kulturen dauerten 12 Monate lang (bei 37° C).

In Gehirnnährböden, die nach den Vorschriften von v. Hibler<sup>1)</sup> hergestellt waren, wurde nach einigen Tagen eine Schwärzung der unter der Agarschicht gelegenen Nährbodenpartieen sichtbar<sup>2)</sup>. Die Schwärzung war nicht sehr stark. Gasbildung und Verflüssigung konnte nie nachgewiesen werden.

In Milch erfolgte Wachstum, aber langsam. Erst nach mehreren Wochen wurde die Entwicklung dadurch kenntlich, daß sich unter langsam eintretender Gerinnung und Zusammenziehung des Gerinnsels unterhalb der Rahmschicht in spärlicher Menge leicht getrübte, graugelbliche Flüssigkeit zeigte. Die Flüssigkeitsschicht vergrößerte sich langsam, bis sich schließlich folgendes Aussehen der Kulturen entwickelt hatte:

In größeren Erlenmeyer-Kolben folgte der Rahmschicht eine 3–4 Finger breite Schicht klarer, hellgelber Flüssigkeit, unter der ein mächtiges, festes Gerinnsel lag, das sich von den Seitenwänden des Gefäßes etwas zurückgezogen hatte und an seiner Oberfläche eine mehr oder weniger tiefe kraterförmige Einziehung zeigte. Die Ränder dieser kraterähnlichen Einziehung waren scharf. Auch bei stärkerem Schütteln der Kulturen gab das Gerinnsel Partikelchen nicht ab. Waren für die Kulturen langhalsige Kölbchen verwendet worden, so sah man in dem Halse des Kölbchens unterhalb der Rahmschicht eine etwa einen Finger breite Zone klarer, gelblicher Flüssigkeit und unterhalb dieser das Gerinnsel. Dieses hatte vollständig die Form des Kölbchens, nur hatte es sich im Halsteile und in den oberen Partieen des Kölbchenbauches etwas von den Wänden zurückgezogen. Der Zwischenraum war mit klarer, gelblicher Flüssigkeit erfüllt. Das Gerinnsel hatte also in den langhalsigen Kölbchen nicht ein kraterähnliches Aussehen, sondern ein flaschenförmiges, indem sich von seinem unteren Anteile ein längerer Zapfen in den Halsteil des Kölbchens fortsetzte, wo er an einzelnen Stellen an den Wänden leicht fixiert war.

Gasbildung und Verflüssigung des Gerinnsels waren niemals nachzuweisen, auch nicht, wenn die Kulturen monatelang beobachtet wurden (6 Monate lang).

In Traubenzuckeragar mit Zusatz von 0,1 Proz. indigoschwefelsaurem Natron erfolgte scheinbar ohne Beeinträchtigung Wachstum mit vollständiger Entfärbung des Nährbodens innerhalb der ersten 24 Stunden. Gasbildung fehlte. Zusatz von 1,0 Proz. verhinderte die Entwicklung.

1) v. Hibler, Beiträge zur Kenntnis der durch anaërobe Spaltpilze erzeugten Infektionskrankheiten der Tiere und des Menschen, sowie zur Begründung einer genauen bakteriologischen und pathologisch-anatomischen Differentialdiagnose dieser Prozesse. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXV. 1899.)

2) Der Nährboden wurde in hohe Eprouvetten gefüllt und nach der Impfung mit Agar überschichtet. Zur Kontrolle wurden auch nicht beimpfte Nährböden in gleicher Weise überschichtet. Auch diese zeigten eine Schwärzung unter der Agarschicht, doch war sie deutlich geringer als bei den geimpften. Daß eine Vermehrung der Bacillen im Nährboden stattgefunden hatte, bewiesen die angelegten Deckglaspräparate.



Traubenzuckeragar mit Zusatz von Neutralrot (konzentrierte Lösung) zeigte nur dann spärliches Wachstum, wenn sehr geringe Mengen zugesetzt worden waren. Ein Tropfen der Neutralrotlösung, ungefähr 15 ccm Traubenzuckeragar zugegeben, verhinderte bereits die Entwicklung des Bacillus. Selbst  $\frac{1}{4}$  Tropfen der Lösung beeinträchtigte noch das Wachstum. War jedoch Wachstum erfolgt, so entfärbte sich der Nährboden, wenn auch niemals vollständig. Gasbildung fehlte.

In Lackmus-Mannitagar zeigte sich erst nach einiger Zeit dürftige Entwicklung ohne Gasbildung. Der Nährboden wurde dabei rosafarben und entfärbte sich stellenweise ganz.

In Zuckerfleischbrühkulturen verschiedenen Alters konnten nachgewiesen werden<sup>1)</sup>:

Schwefelwasserstoff in wechselnder Menge, reichlich Aethylalkohol und Buttersäure und in verschieden reichlicher Menge Milchsäure. Essigsäure fand sich nie vor, ebenso fehlte Aceton. Indol fand sich nur einmal in Spuren.

Tabelle.

Nährlösung	Fleischbrühe mit 1 Proz. Traubenzucker				
Alter der untersuchten Kulturen	4 Tage	8 Tage	13 Tage	21 Tage	381 Tage
Reaktion:	sauer	sauer	sauer	sauer	sauer
Schwefelwasserstoff:	Spuren	mäßig reichlich	spärlich (bei der Destillation reichlich)	spärlich (reichlich bei der Destillation)	negativ (Spuren bei der Destillation)
Indol:	negativ	negativ	Spuren	negativ	negativ
Aethylalkohol:	reichlich	reichlich	sehr reichlich	mäßig reichlich	ziemlich reichlich
Aceton:	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ
Essigsäure:					
Milchsäure:	spärlich	reichlich	sehr reichlich	sehr spärlich	ziemlich reichlich
Buttersäure:	sehr reichlich	sehr reichlich	„	sehr reichlich	ziemlich reichlich

Ein ähnliches Resultat ergab die chemische Untersuchung einer Milchkultur der 131. Generation, die fast volle 6 Monate lang bei 37° C gestanden hatte; die Milch reagierte sauer, war geruchlos, enthielt kein

1) Die qualitative Untersuchung auf Schwefelwasserstoff, Indol, Alkohol, Aceton, Essigsäure, Milchsäure und Buttersäure wurde von uns immer in folgender Weise ausgeführt:

Die zu untersuchende Flüssigkeit wurde mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert und dann destilliert.

Zum Nachweis des Schwefelwasserstoffes (SH<sub>2</sub>) wurden in die Vorlage mit Bleiacetat befeuchtete Streifen von Filtrierpapier gehängt.

Das Destillat wurde hierauf geprüft auf:

1) Alkohol durch die Jodoformreaktion (Jodjodkalium und Kalilauge);

2) Aceton durch die Jodoformreaktion (Jodtinktur und Ammoniak);

3) Essigsäure mit Eisenchlorid;

4) Indol mit Kaliumnitrit und konzentrierter Schwefelsäure;

5) Buttersäure dadurch, daß ein Teil des Destillates mit reiner Natronlauge alkalisch gemacht und auf dem Wasserbade eingedampft und der Rückstand mit verdünnter Schwefelsäure übergossen wurde;

6) Milchsäure dadurch, daß der Destillationsrückstand mit Aether ausgeschüttelt, der Aether sodann abgedampft, der Rückstand in Wasser gelöst und diese Lösung mit Eisenchlorid versetzt wurde.

Indol und kein Aceton, keine Essigsäure, spärlich Schwefelwasserstoff, reichlich Aethylalkohol und Buttersäure und mäßig reichliche Mengen von Milchsäure.

Das Wachstum des *Bacillus* erfolgte am besten bei schwach alkalischer Reaktion. Zusatz von 0,2 ccm Normalnatronlauge<sup>1)</sup> zu lackmusneutralem Zuckeragar (1 Proz. Traubenzucker) ergab das üppigste Wachstum. Bei Zusatz von 0,4 ccm war bereits eine deutliche Abnahme in der Entwicklung nachweisbar, bei Zusatz von 0,6 ccm erfolgte Wachstum nur mehr in Spuren und bei Zusatz von 0,8 ccm unterblieb es bereits vollständig.

Geringe saure Reaktion verhinderte das Wachstum nicht, beeinträchtigte es aber deutlich. Bei Zusatz von 0,1 ccm Normalmilchsäure zu lackmusneutralem Zuckeragar erfolgte noch innerhalb von 48 Stunden spärliches Wachstum, bei Zusatz von 0,2 ccm aber nur mehr eine Spur und auch diese erst nach 4 Tagen.

Der *Bacillus* entwickelte sich sowohl bei Bruttemperatur (37° C) als auch bei Zimmertemperatur (21° C), nur erfolgte das Wachstum bei 21° C bedeutend langsamer. Während bei 37° C Entwicklung schon innerhalb von 24 Stunden erzielt werden konnte, erfolgte diese bei 21° C (Zimmertemperatur) meist erst nach mehreren Wochen oder später und auch nur dann, wenn besonders geeignete Nährböden für die Züchtung verwendet worden waren.

Der *Bacillus* war der Einwirkung des Sauerstoffes gegenüber besonders empfindlich, was für die Gewinnung von Oberflächenkolonien sehr störend wirkte.

Die Lebensfähigkeit des *Bacillus* in Nährböden war im allgemeinen keine große. Wenn Kulturen in Traubenzuckeragar jeden oder jeden 2. Tag überimpft wurden, erfolgte sichtbares Wachstum schon innerhalb von 24 Stunden. Wurden die Kulturen aber nur alle 5 bis 8 Tage überimpft, so ließ das Wachstum der neu angelegten Kulturen schon mehrere Tage auf sich warten. Die Kulturen hatten in ihrer Lebensfähigkeit bereits eine Einbuße erlitten. Besonders empfindlich waren die Kulturen in Traubenzuckeragar, die bei 37° C — wenn auch mit Guttaperchaverschluß — aufbewahrt worden waren. Auch bei Zimmertemperatur (21—22° C) konnten Traubenzuckeragarkulturen nicht viel länger als wie bei Brutofentemperatur lebensfähig erhalten werden. Durchschnittlich nach 4, längstens 6 Wochen waren die Kulturen unter diesen Bedingungen nicht mehr übertragbar.

Länger erhielten sich Kulturen in Traubenzuckeragar, wenn sie im Eiskasten bei niedriger Temperatur (ca. 5° C) aufbewahrt wurden. Auf diese Weise konnten wir Kulturen 6 Monate lang lebensfähig erhalten. Wahrscheinlich aber hielten sie sich noch länger überimpfbar.

Dagegen war die Lebensfähigkeit der Kulturen in erstarrter Hydrokelen- oder Ascitesflüssigkeit im allgemeinen eine große und zwar auch dann, wenn die Kulturen — allerdings vor Austrocknung geschützt — bei 37° C aufbewahrt wurden. Es gelang uns so Kulturen, die ein

1) In unseren Versuchen verwendeten wir zur Alkalisierung Normalnatronlauge vom Titre: 1 ccm = 0,8374 ccm Normalnatronlauge. Die Epröuvetten enthielten 15 ccm Nährmaterial (Zuckeragar). Es entsprach demnach der Gehalt an NaOH bei einem Zusatz von 0,1 ccm = 0,022 Proz.

Für die Ansäuerung wurde Normalmilchsäure benutzt (Titre: 1 ccm = 0,6364 ccm Normalmilchsäure). Bei 15 ccm Epröuvetteninhalt entsprach daher der Gehalt an C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>O<sub>4</sub> bei Zusatz von 0,1 ccm = 0,038 Proz.

ganzes Jahr lang nicht überimpft worden waren, wieder zu übertragen. Daß aber auch bei diesen Kulturen nicht alle Keime lebensfähig blieben, ließen die neu angelegten Kulturen daran erkennen, daß manchmal nur mehr vereinzelte Kolonien zur Entwicklung gekommen waren.

Da der *Bacillus* keine Sporen bildete, muß also angenommen werden, daß serumhaltige Nährböden dem *Bacillus* besonders gut zusagten. Damit stimmte auch die Tatsache überein, daß in diesen Nährböden die dem *Bacillus* eigentümlichen kleinen Formen sich am besten und am längsten erhielten, während in den übrigen Nährmedien rasch Degenerationsformen in Gestalt geblähter Gebilde auftraten.

### Pathogenes Verhalten.

Die Pathogenität des isolierten *Bacillus* war eine recht geringe. Für die Versuche wurden junge Meerschweinchen, weiße Mäuse und junge Kaninchen gebraucht. Die dazu benutzten Kulturen waren 48-stündige Zuckerbouillon- oder Zuckergelatinekulturen und wurden den Tieren subkutan oder intraperitoneal einverleibt.

Die ersten Generationen des *Bacillus* konnten für die Experimente nicht verwendet werden, da das Wachstum ein dürftiges und die Weiterzuchtung eine schwierige war.

Eine Anzahl der geimpften Tiere reagierte auch auf größere Mengen nicht oder kaum merklich. Einige der Tiere aber zeigten Reaktion, die allerdings wieder verschwand. So trat manchmal nach subkutaner Impfung an der Infektionsstelle ein kleineres oder größeres Infiltrat auf mit gleichzeitiger Gewichtsabnahme des Tieres. Dieses Infiltrat ging entweder wieder vollständig zurück oder exulcerierte, so daß dann ein unregelmäßig begrenzter Substanzverlust entstand.

Wurden Tiere mit kleinen Infiltraten getötet, so fand man in dem Infiltrate hämorrhagisch-fibrinös-eiteriges Exsudat, in dem man die Bacillen in ziemlich reichlicher Menge auch noch dann vorfinden konnte, wenn das Infiltrat schon etliche Tage bestanden hatte.

Nach intraperitonealer Injektion zeigten Meerschweinchen einigemal ausgesprochene Krankheitserscheinungen und große Druckempfindlichkeit des Bauches. Diese Erscheinungen gingen aber wieder zurück.

In den späteren Generationen verlor der *Bacillus* auch diese geringe Pathogenität, so daß selbst große Dosen bei den genannten Tieren völlig wirkungslos blieben.

(Forts. folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Ueber Cholera-vibrionen und andere pathogene Vibrionen.

### I. Ueber die Beziehungen der Vibrionen El Tor zu dem Cholera-vibrio.

[Aus dem staatl. serotherapeutischen Institute in Wien.  
Vorstand: Prof. R. Paltauf.]

Von Privatdozent Dr. R. Kraus und Dr. E. Příbram.

#### Einleitung.

Eine exakte Diagnostik des Cholera-vibrio wurde erst durch die biologischen Reaktionen inaugurirt. Erst durch R. Pfeiffer haben wir gelernt, den Cholera-vibrio von morphologisch und kulturell ähnlichen Vibrionen sicher zu unterscheiden. Die zahlreichen Arbeiten in dieser Richtung, namentlich die in letzterer Zeit ausgeführten von C. Prausnitz (1), Gottschlich und Kolle (2) haben uns die volle Ueberzeugung von der Brauchbarkeit der Serodiagnostik zur Erkennung von Cholera-vibrionen gebracht. Ganz anders ist es mit der Differenzierung der vielen anderen cholera-ähnlichen Vibrionen. Es gelingt wohl mittels der biologischen Methoden, Vibrionen, die sich kulturell und morphologisch wie Cholera-vibrionen verhalten, von den letzteren zu unterscheiden, sie aber in Beziehung zu anderen ähnlichen Vibrionen zu bringen, ist nicht möglich. Ein verwandtschaftliches System der Vibrionen fehlt bis heute. C. Prausnitz, Gottschlich und Kolle haben wohl als die Ersten versucht, mittels Agglutination die Vibrionen zu gruppieren, ohne daß es ihnen gelungen wäre, zu einer Einteilung zu gelangen. Durch die folgenden Untersuchungen scheint es aber überhaupt in Frage gestellt zu sein, ob die Agglutination allein zur Unterscheidung von Vibrionen untereinander herangezogen werden kann. Die erste Mitteilung beschäftigt sich damit, die Beziehungen der Vibrionen El Tor, die bisher als Cholera-vibrionen angesehen werden, zu dem Cholera-vibrio Koch festzustellen. Auf Grund der beim Studium dieser Vibrionen gewonnenen neuen Tatsachen sollen in einer weiteren Mitteilung die Beziehungen der Cholera-vibrionen El Tor zu den von Gottschlich gefundenen anderen Vibrionen El Tor und zu anderen hämotoxinproduzierenden Vibrionen ermittelt werden.

Daß diese Untersuchungen durchgeführt werden konnten, verdanken wir der Liebenswürdigkeit des Herrn Dr. Ruffer, Präsidenten des Conseil sanitaire d'Egypte, welcher es gestattete, daß uns die von Herrn Dr. F. Gottschlich gezüchteten Vibrionen aus El Tor zum Studium überlassen wurden<sup>1)</sup>.

F. Gottschlich (3) hat, wie aus seinem Berichte hervorgeht, im Sommer 1905 107 Leichen von Mekkapilgern, die keine Zeichen der Cholera asiatica gezeigt hatten, bakteriologisch untersucht und konnte in 38 Fällen Vibrionen aus dem Darminhalt züchten. Von diesen Vibrionen erwiesen sich 6 Vibrionenstämmen als Cholera-stämme. Nicht

<sup>1)</sup> Die 6 Cholera-stämme wurden durch Herrn Dr. Prochnik, k. k. Konsul in Djeddah, dem Institute überbracht und zum Studium mit freundlicher Erlaubnis des Herrn Prof. E. Gottschlich überlassen.

nur morphologisch und kulturell haben diese Vibrionen alle Charaktere des *Cholera-vibrio*, sondern auch auf Grund des Pfeifferschen Versuches und der Agglutination mußte die Zugehörigkeit dieser Stämme zu den *Cholera-vibrionen* angenommen werden.

Die Tatsache nämlich, daß bei Menschen, die nicht an *Cholera asiatica* erkrankt sind, im Darminhalt der *Cholera-vibrio* gefunden werden kann, wäre gar nicht so merkwürdig. Wissen wir ja seit den Untersuchungen von Dönitz, Kolle, daß *Cholera-rekonvaleszenten* bis zu 50 Tagen nach Ablauf der klinischen Erscheinungen Träger von *Cholera-vibrionen* sein können.

F. Gottschlich und mit ihm Gaffky, Kolle und Meinicke nehmen auch an, daß die betreffenden Mekkapilger entweder in ihrer Heimat *Cholera* überstanden haben oder durch den Verkehr mit cholera-kranken Menschen auf dem Wege nach Hedjaz zu *Cholera-trägern* geworden sind.

Der Annahme, daß die Vibrionen von *Cholera-rekonvaleszenten* stammen, widerspricht der Bericht des Herrn Dr. Osborne, wonach einige der 6 in Frage kommenden Pilger aus Ländern stammten, wo seit Jahren keine *Cholera* mehr existiert hat. Auch Prochnik (4) hat seine Bedenken gegen die Auffassung Gottschlichs in einem Artikel „*Cholera-vibrionen ohne Cholera*“ ausführlich dargelegt.

Der erwähnte Bericht des Herrn Dr. Osborne führt an, daß es nicht das erste Mal sei, daß im Pilgerlager Tor die diagnostische Bakteriologie und die klinische Empirie einander feindlich gegenüber stehen. Im Jahre 1897 konstatierte der Bakteriologe des Pilgerlagers einen *Vibrio*, der vollkommen identisch war mit dem *Cholera-vibrio*. Trotzdem weigerte sich der Leiter des Pilgerlagers, dasselbe für versucht zu erklären, da nicht ein einziger Pilger die Symptome der *Cholera* aufwies.

Die Untersuchungen von F. Gottschlich, Kolle und Meinicke (5) haben eine vollständige Identität der *Cholera-vibrionen* Tor mit dem Kochschen *Vibrio* festgestellt, so daß vom bakteriologischen Standpunkt an der Natur dieser Vibrionen nicht zu zweifeln war und die Identität auf Grund unserer bisherigen Kenntnisse anerkannt werden mußte. Es konnte auch nicht daran gedacht werden, diese Vibrionen als anders pathogen aufzufassen und die Dysenterie und Colitis, welcher die Pilger erlegen sind, in einen ätiologischen Zusammenhang zu bringen.

Wenn es uns auch nicht gelungen ist, den Widerspruch, welcher zwischen den epidemiologischen Tatsachen und den bakteriologischen Feststellungen besteht, zu klären, konnten wir doch auf neue Eigenschaften dieser *Cholera-vibrionen* von El Tor aufmerksam machen, die vielleicht doch zu einer Sonderstellung dieser Vibrionen führen dürften. Das vorläufige Resultat unserer Untersuchungen wurde bereits auf der Naturforscherversammlung in Meran kurz mitgeteilt (6). Es ergab sich, daß diese *Cholera-vibrionen* morphologisch, kulturell und auch biologisch alle Charaktere der *Cholera-vibrionen* aufweisen, wie es F. Gottschlich, Gaffky, Kolle und Meinicke angegeben hatten, daß diesen aber noch Eigenschaften zukommen, welche der *Cholera-vibrio* Koch nicht besitzt, indem alle 6 Stämme Hämotoxine (Hämolysine) und ein akut wirkendes Toxin produzieren.

Dadurch waren neue Eigenschaften an diesen Vibrionen entdeckt,

welche sie von dem Choleravibrio unterscheiden lassen, die aber, wie aus den folgenden Untersuchungen hervorgeht, nicht artspezifisch sind.

**Ueber das Verhalten der El Tor-Vibrionen zu agglutinierendem Choleraserum und des Choleravibrio zu agglutinierendem Vibrionenserum.**

Zur Ergänzung der Versuche Gottschlichs haben wir diese Stämme mit einem hochwertigen Choleraserum agglutiniert und haben weitere Cholerastämme und diese Stämme mit Seris, die mit den El Torstämmen gewonnen waren, zur Agglutination herangezogen. Gottschlich hat nämlich, wie aus seinem Rapport hervorgeht, die Stämme mit Choleraserum agglutiniert, dessen höchster Wert 2000-fach war. Es wäre nach den Erfahrungen der jüngsten Zeit immerhin möglich gewesen, daß diese Stämme, ohne Cholerastämme zu sein, vom Choleraserum mitagglutiniert werden, sowie beispielsweise Typhusbacillen vom Paratyphuserum etc. Die in dieser Richtung ausgeführten Untersuchungen, welche in den folgenden Tabellen niedergelegt sind, lehren, daß auch hochwertiges Choleraserum in denselben Werten die El Torstämmen agglutiniert wie Cholerastämme. Weiter zeigt sich, daß Sera gewonnen mit El Torstämmen (I, III und V) auch Cholerastämme ebenso hoch agglutinieren wie El Torstämmen.

Die Arbeiten von C. Prausnitz, namentlich aber die ausgedehnten Untersuchungen von E. Gottschlich und Kolle lehren, daß ein hochwertiges Choleraserum ein sicheres Reagens für Cholerastämme ist und daß in hohen Verdünnungen nur Cholerastämme und niemals andersartige Vibrionen agglutiniert werden. Kolle und Gottschlich haben weiterhin die Tatsache festgestellt, daß ein mit choleraähnlichen Vibrionen gewonnenes Serum Choleravibrionen nicht stärker zu agglutinieren vermag wie normales Serum.

Nach dem Ausfall dieser Versuche würden auch wir mit Gottschlich, Gaffky und Kolle annehmen, daß diese 6 Stämme als Choleravibrionen aufzufassen sind.

Interessant ist die Beobachtung, daß trotzdem ein hochwertiges agglutinierendes Choleraserum alle Stämme in Verdünnungen 1:10000 agglutinierte, doch mit einzelnen Seren (gewonnen mit El Torvibrionen III, V) Unterschiede auftraten. So agglutinierte Serum, gewonnen mit Stamm III, einzelne Stämme Tor und auch Cholerastämme bis 1:1000, andere Torstämmen nur bis 1:500 und 200, oder Serum gewonnen mit Stamm V agglutinierte den Torstamm in 200-facher Verdünnung, sowie den Cholerastamm 102, dagegen agglutinierte es den Stamm Tor I, IV und VI nur bis zur 100-fachen Verdünnung. Die Stämme I, IV und VI, welche Pilgern eines Schiffes (Bassorah) entstammen, zeigen bei Verwendung der agglutinierenden Vibrionensera ein fast gleiches Verhalten, indem sie niedriger agglutinieren als die Stämme II, III und V und alle Cholerastämme. Daß selbst diese Differenzen nicht im stande sind, die zur Zeit anerkannte Spezifität des agglutinierenden Choleraserums zu erschüttern, lehren Versuche, die in einer späteren Arbeit mitgeteilt werden, wonach kein einziges dieser Sera, welches mit diesen 6 Stämmen gewonnen wurde, choleraähnliche Vibrionen höher agglutiniert hatte als normales Serum. Auch das Serum des Vibrio Nasik, welches diesen Stamm in 10000-

**Agglutination der Vibrionen El Tor mit agglutinierendem Serum,  
gewonnen mit Cholera Pfeiffer.**

Serum	Ver- dünnung	Vibrionen El Tor						Chol. Calcutta	Chol. Flügge	Chol. Pfeiffer	99 <sup>1)</sup>	102
		I	II	III	IV	V	VI					
Diana	1:8000	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	1:10 000	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	1:12 000	0	0	0	+	+	partiell	partiell	partiell	partiell	+	0
Edith	1:4000	partiell	+	partiell	+	+	+	—	+	—	partiell	—
Chol. 102	1:40	+	+	+	+	+	+	—	+			
	1:80	0	+	+	+	+	+	—	+			
	1:100	0	0	0	0	0	0	—	0			

**Agglutination der Vibrionen El Tor und Cholerastämme mit  
agglutinierendem Serum, gewonnen mit El Torstämmen.**

Stämme	Ser. St. III gewonnen mit Agarkultur	Ser. St. III gewonnen mit Bllc.	Ser. St. II	Ser. St. V	Ser. St. IV
I	1:500	1:500	1:8000	1:100 partiell	1:1000
II	1:1000	1:1000	1:10 000	1:2000	1:1000
III	1:1000	1:1000	1:10 000	1:1000	1:1000 partiell
IV	1:200	1:200	1:8000	1:100	1:1000
V	1:800	1:800	1:10 000	1:1000	1:1000
VI	1:500	1:500	1:10 000 partiell	1:100	1:1000
Chol. Calcutta	1:1000	—	1:10 000	—	—
Chol. Flügge	1:1000 partiell	—	1:10 000	1:500	—
Chol. Pfeiffer	—	—	1:10 000	1:500	—
99	1:1000	—	1:10 000	1:500	—
102	1:1000	—	1:10 000	1:2000	—
8	1:1000 partiell	—	1:10 000	1:500	—
Vibrio Nasik	1:10 partiell	1:10 partiell	1:10 partiell	—	1:100 partiell

**Agglutination der El Torstämmen mit agglutinierendem Serum,  
gewonnen mit Vibrio Nasik.**

Stamm	1:10	1:50	1:100	1:5000
Nasik	+	+	+	+
El Tor I	+	0		
" II	+	0		
" III	+	0		
" IV	+	0		
" V	+	+	0	
" VI	+	0		

1) Stamm 99—102 verdanken wir der Freundlichkeit des Herrn Doz. Friedberger. Diese Stämme sind aus Cholerafällen im heurigen Sommer in Deutschland gezüchtet worden.

fachen Verdünnungen agglutiniert, hat die El Torstämme nicht einmal in 100-facher Verdünnung agglutiniert. Umgekehrt agglutiniert Serum dieser El Torstämme den *Vibrio Nasik* nicht höher als normales Serum.

Ueber das hämotoxische Vermögen der El Torvibrionen.

Einer von uns (Kraus) (7) hat nachgewiesen, daß Choleravibrionen zum Unterschied von choleraähnlichen Vibrionen kein lösliches Hämotoxin zu produzieren im stande sind. Während fast alle choleraähnliche Vibrionen in alkalischer Bouillon lösliche Hämotoxine produziert haben, gelang es niemals bei Choleravibrionen, die mittels Agglutination als typische Stämme bestimmt wurden, ein lösliches Toxin nachzuweisen. Auch spätere Untersuchungen, die Pflbram (8) im Institute angestellt hatte, sind zu demselben Resultate gelangt. Zu ganz gleichen Resultaten gelangte auch Meinicke (9), der unter Kolles Leitung die von uns ermittelte Tatsache einer Nachprüfung unterzogen hatte. Es war daher höchst überraschend, als wir bei der Untersuchung verschiedenaltiger Bouillonkulturen der El Torstämme Hämotoxine nachweisen konnten. Bereits in 2 Tage alten Bouillonkulturen, die bei 37° gehalten, wurden Hämotoxine gefunden, indem 0,01 ccm dieser Kulturen bereits nach einer Stunde 5 ccm einer defibrinierten 5-proz. Kaninchenblutaufschwemmung zu lösen vermochten (nach Zusatz von 0,005 ccm trat Hämolyse erst nach 16 Stunden auf). Ebenso wie die Bouillonkultur, vermochte auch das durch Reichel-Filter gewonnene Filtrat Blutkörperchen aufzulösen. Besondere Unterschiede in der Intensität der produzierten Hämotoxine konnten bei den verschiedenen Stämmen nicht wahrgenommen werden. Nachdem es Kolle und Meinicke (l. c.) nicht gelingen konnte, wie sie in dem Bericht an den Präsidenten des Sanitätsrates in Aegypten mitteilen, Hämotoxine dieser Stämme nachzuweisen, haben wir diese Untersuchungen mit den von Herrn Dr. Meinicke uns freundlichst überlassenen Stämmen wiederholt und bekamen dieselben Resultate wie mit den Stämmen aus El Tor, die uns Herr Dr. Prochnik überbracht hatte. Wodurch die negativen Resultate von Kolle und Meinicke zu erklären wären, vermögen wir nicht zu sagen. Sichergestellt ist es durch unsere Untersuchungen, daß diese Stämme zum Unterschied von allen bisher untersuchten Cholerastämmen ebenso Hämotoxine produzieren wie andere choleraähnliche Vibrionen.

Trotz zahlreicher Untersuchungen an vielen Cholerastämmen, welche immer wieder die einmal festgestellte Tatsache bestätigt haben, daß Hämotoxine in verschiedenaltigen Bouillonkulturen der Choleravibrionen nicht nachweisbar sind, unternahmen wir es noch einmal, Cholerastämme daraufhin zu untersuchen. Wir wählten zu diesem Zwecke frische Cholerastämme<sup>1)</sup>, die aus Cholerafällen heuer gezüchtet wurden. Von 7 Cholerastämmen, die zum Teil aus Cholerafällen im Kaukasus, zum Teil aus Persien stammen, die mit Choleraserum identifiziert wurden, hat kein einziger in Mengen von 1 ccm zu lösen vermocht. Auch die 5 Stämme, welche aus Cholerafällen in Deutschland gezüchtet wurden,

1) Diese Cholerastämme wurden uns freundlichst von Herrn Prof. Pfeiffer in Königsberg und von Herrn Dr. Wladimiroff in Petersburg überlassen.



hatten in verschiedenaltigen Bouillonkulturen kein Hämotoxin gebildet. In der früher bereits angeführten Arbeit haben wir außer dem Fehlen der Hämotoxine bei Cholera und dem Vorhandensein derselben in Bouillonkulturen von Vibrionen noch Agarblutplatten zur Differentialdiagnose herangezogen. Solche Versuche wurden auch mit El Torvibrionen durchgeführt und statt Kaninchenblut Ziegen- und Hammelblut (Kraus und Prantschoff) (10) benützt. Zum Unterschied von 6 Cholerastämmen, die selbst nach 48 Stunden um die Kolonien keine Aufhellungszone aufwiesen, waren um die Kolonien von 6 El Torvibrionen bereits helle Höfe deutlich ausgesprochen. Aus all diesen Versuchen ergibt sich, daß die 6 El Torstämme eine Eigenschaft besitzen, nämlich die, Hämotoxin zu produzieren, welche bisher bei Cholerastämmen, die aus typischen Cholerafällen gezüchtet wurden, niemals gefunden wurde.

Im folgenden werden wir sehen, daß diesen Stämmen noch eine weitere Eigenschaft zukommt, die sie vom typischen Choleravibrio unterscheidet.

#### Ueber ein akut wirkendes Toxin der El Torvibrionen.

Wenn auch ältere Angaben von Petri, Gamaleia, Westbrook, Hueppe vorliegen, wonach Choleravibrionen lösliche Gifte produzieren sollen, so wird doch jetzt allgemein auf Grund der Arbeiten Pfeiffers und seiner Mitarbeiter angenommen, daß der Choleravibrio kein nachweisbar lösliches Gift (Toxin) produziert. Selbst der von Metschnikoff, Roux und Salimbeni (11), sowie auch die von Behring und Ransom (12) nachgewiesenen löslichen Gifte vermochten nicht die Lehre Pfeiffers abzuschwächen, da der Beweis für die Echtheit der zu den Versuchen verwendeten Vibrionenstämmen nicht erbracht ist. So viel aber läßt sich aus den Versuchen von Metschnikoff, Roux und Salimbeni, sowie denen von Ransom schließen, daß gewisse Vibrionen lösliche Toxine produzieren dürften. Auch nach unseren Erfahrungen sind wir dazu gelangt, anzunehmen, daß die Bouillonkulturen von Choleravibrionen kein lösliches Toxin im Sinne des Diphtherie- oder Tetanustoxins nachweisbar ist. Demgegenüber gelang es, in Bouillonkulturen aller 6 Stämme El Tor ein akut wirkendes Toxin nachzuweisen. Nach intravenöser Injektion bereits 2 Tage alter Bouillonkulturen gehen Kaninchen, im Gewichte 800–1000 g, innerhalb weniger Minuten bis 1 Stunde unter ganz ähnlichen Erscheinungen zu Grunde, wie wir es beim Gifte des Vibrio Nasik beobachten konnten (11). Die Kaninchen atmen frequenter, werden unruhig, bekommen Paresen und Paralysen und gehen nach 2–60 Minuten mit einigen terminalen Zuckungen zu Grunde. Die Obduktion ergibt keinen Anhaltspunkt für den akuten Tod (weder im Herzen, noch in den Lungengefäßen sind Thromben nachweisbar, das Blut ist flüssig, nicht lackfarben). Wie gesagt, konnten diese Gifte in allen Kulturen der El Torstämme nachgewiesen werden. Die Stämme sind nicht alle gleichmäßig giftig, am stärksten giftig sind die Stämme IV und V, welche in Mengen von 0,25–0,5 ccm Tiere innerhalb von 1 Stunde töten.

Die Giftigkeit läßt sich auch an Filtraten, gewonnen mit Reichel-Filtern, nachweisen, so daß kein Zweifel darüber bestehen kann, daß die akute Wirkung einem löslichen Gifte zuzu-

schreiben ist. Dieses Gift, dessen weiteres Studium wir uns vorbehalten, ist nicht nur für Kaninchen tödlich, sondern auch Meerschweinchen, Hühner und Tauben gehen nach intravenöser Injektion innerhalb 2 bis 60 Minuten zu Grunde. Nach den bisherigen Untersuchungen hat die Wirkung dieser Gifte eine große Ähnlichkeit mit der des Vibrio Nasik. Ob wir auch hier es mit einem Herzgift zu tun haben, wie Rothberger (13) für das Gift des Vibrio Nasik nachgewiesen hat, darüber sollen weitere Untersuchungen Aufklärung bringen. Sichergestellt ist durch diese Versuche, daß diese Vibrionen zum Unterschied von den Cholera-vibrionen und choleraähnlichen Vibrionen, wie V. Metschnikoff, Finkler Prior, Danubicus ein akut wirkendes Gift produzieren, so wie wir es beim Vibrio Nasik, welcher von uns als ein choleraähnlicher Vibrio charakterisiert wurde, gefunden haben.

Durch diese Untersuchungen wurden neue Eigenschaften der El Tor-vibrionen ermittelt, welche bisher bei Cholera-vibrionen, die typischen Cholerafällen entstammen, niemals gefunden wurden. Es bleibt nun zu entscheiden, ob wir auch jetzt noch berechtigt sind, diese Stämme als Cholera-stämme aufzufassen und sie mit dem Cholera-vibrio Koch zu identifizieren.

Die Tatsache, daß diese Stämme aus Fällen gezüchtet wurden, die keine Choleraerscheinungen darboten, läßt eventuell an die Möglichkeit denken, daß diese Stämme, da sie ein so wirksames Toxin bilden, eine pathogene Bedeutung haben dürften. Vorderrhand soll diese Frage nur angeregt sein, ohne daß wir sie weiter in Diskussion ziehen. In der Folge mußte man natürlich, um Klarheit zu schaffen, die in Hedjaz an Dysenterie und Colitis gestorbenen Menschen bakteriologisch daraufhin untersuchen und die Möglichkeit einer durch Bac. Kruse et Flexner oder Amoeba hystolit. hervorgerufenen Dysenterie ausschließen.

Wie weitere Untersuchungen lehren, müssen aber diese Vibrionen, die auf Grund der biologischen Reaktion enge Beziehungen zu Cholera-vibrionen haben, auch in Beziehung gebracht werden zu anderen choleraähnlichen Vibrionen.

(Schluß folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Ueber das Verhalten des Rotzvirus im Harne und seine Ausscheidung durch die Nieren.

[Aus dem pathologisch-anatomischen Institute der kgl. Universität zu Padua (Direktor: Prof. A. Bonome).]

Von Dr. Giovanni Cagnetto, Assistenten und Privatdozenten.

Übersetzt von Dr. Kurt Tautz-Berlin.

Unter den experimentellen Untersuchungen, welche bis jetzt die verschiedenen biologischen Eigenschaften des Rotzvirus zum Gegenstand gehabt haben, bieten diejenigen das größte Interesse, die sich mit den verschiedenen Wegen der Entfernung dieses Virus aus dem infizierten Organismus beschäftigen. Mit der Feststellung der verschiedenen Art

und Weise der Verbreitung und des Fortbestehens der Rotzinfektion in der Außenwelt haben sie wissenschaftlich einige alte empirische Erfahrungen über die Uebertragung dieser Krankheit bestätigt und einen rationellen Weg für alle prophylaktischen Maßnahmen angegeben.

Von diesen Untersuchungen gehören einige der vorbakteriologischen Aera an, andere fallen in die Zeit der ersten Anfänge der Bakteriologie, wo die technischen Hilfsmittel zum Studium der Mikroorganismen noch sehr beschränkt waren und man von einem großen Teile der Biologie des spezifischen Rotzerregers noch gar nichts wußte, da man nur seine Wirkungen auf den lebenden Organismus kannte; wieder andere sind die Früchte der jüngsten Zeit und verdienen mehr als die früheren unsere ganze Aufmerksamkeit, da bei ihnen außer dem Nachweise der Pathogenität bestimmter von rotzkranken Tieren herstammender Materialien, auf die ausschließlich sich die Schlüsse früherer Untersucher stützten, auch die viel sicherere Kontrolle der Reinkultur des Virus angewandt wurde.

Nicht wenige Experimente über die Infektiosität des Blutes rotzkranker Pferde stammen z. B. aus einer Zeit, die der Entdeckung des spezifischen Bacillus weit vorausging, und betreffen Versuche über die Uebertragbarkeit der Krankheit auf gesunde, für eine Rotzinfektion notorisch leicht empfängliche Tiere (Esel, Maultiere); man führte dabei kleine Mengen Blutes, das von Pferden mit akutem oder chronischem Rotz stammte, entweder in den Verdauungstraktus oder subkutan ein. Auf Grund derartig angestellter Untersuchungen konnten unter anderen Viborg<sup>1)</sup>, Colemann<sup>2)</sup>, Dieffembach<sup>3)</sup> und Renault<sup>4)</sup>, ohne den Rotzerreger zu kennen, doch die Behauptung aufstellen, daß das Rotzvirus im Blute zirkulieren kann.

Das Vorhandensein einer derartigen Erscheinung auch bei den kleinen, für Rotz sehr empfänglichen Laboratoriumssäugetieren (Katzen und Meerschweinchen) kann man heute durch Kulturproben mit größter Leichtigkeit feststellen; es scheint indessen auf Grund moderner, gewissenhafter ausgeführter Untersuchungen die Möglichkeit, den Rotzbacillus im zirkulierenden Blute großer Tiere nachzuweisen, als eine Ausnahme angesehen werden zu müssen, wenn man die Fälle von akutem Rotz (Nocard, Schütz) ausnimmt. Man muß jedoch mit Sicherheit annehmen, daß auch bei den großen, chronisch rotzkranken Tieren wenigstens vorübergehend ein Uebertritt des Virus in das Blut stattfindet, und zwar muß man dies nicht nur aus Analogiegründen glauben, als vielmehr deshalb, weil man sich ohne die Annahme eines Ueberganges des Virus in den Blutstrom sonst das unvermutete Auftreten neuer tiefer spezifischer Herde nicht erklären könnte. Der Uebertritt in das Blut findet also in der Mehrzahl der Fälle statt und ist von großer Wichtigkeit: Er erklärt uns, wie oberflächliche, auch ganz unbedeutende Hämorrhagieen unter bestimmten Umständen ein gefährliches Verbreitungsmittel des Virus in die Umgebung darstellen können; gleichzeitig werden wir dadurch auch auf die Möglichkeit hingewiesen, daß

1) Samml. v. Abhandl. f. Tierärzte u. Oekonomen. Kopenhagen. Bd. II. 1779 u. Bd. III. 1802.

2) Delabère-Blaine, Notions fondamentales de l'art. vétér. Paris. T. III. 1803. p. 217.

3) Recueil de méd. vétér. 1830. p. 298 u. Clinique vétér. 1843. p. 163.

4) Recueil de méd. vétér. 1842. p. 621.

der spezifische Bacillus vom Blutstrom in die drüsigen Organe geschwemmt werden und auf dem Wege der natürlichen Ausscheidung wieder ins Freie gelangen kann. Gerade dies läßt sich bei verschiedenen Gelegenheiten, und zwar häufiger, als man denken sollte, nachweisen. So konnte Renault (l. c.) durch Verimpfung von Sperma rotzkranker Tiere Rotz erzeugen, Cadéac und Malet<sup>1)</sup> wiesen die Virulenz des Speichels, Bonome<sup>2)</sup> die der Milch nach, ferner wurde das Vorkommen des Virus in den Tränen (Viborg, Cadéac und Malet), im Scheiden- und Darmschleim (Cadéac und Malet), in der Galle (Farraresi und Guarnieri)<sup>3)</sup> und im Urin konstatiert.

Ich selbst war im Verlaufe der beiden letzten Jahre in der glücklichen Lage, mich mit der bakteriologischen Untersuchung des Blutes und mit besonderem Interesse mit der des Urins einiger rotzkranker Tiere beschäftigen zu können. Ich verdanke dies der großen Güte und Freundlichkeit meines Lehrers, des Herrn Prof. Bonome, der mich gütigst an den Studien über die Uebertragbarkeit des sogenannten latenten Rotzes der Equinen teilnehmen ließ, mit denen er vom Ministerium des Innern betraut worden war; für diesen schmeichelhaften Beweis seines Vertrauens sage ich ihm an dieser Stelle meinen ergebensten Dank.

Meine spezielle Aufgabe war es, zu untersuchen, ob es bei einigen künstlich mit Rotz infizierten Tieren, bei denen die Infektion kürzere oder längere Zeit latent blieb oder wenigstens nur mittels der Malleinreaktion und der Erhöhung des Agglutinationsvermögens des Blutes diagnostizierbar war, möglich wäre, das Rotzvirus im Urin nachzuweisen; es mag noch erwähnt werden, daß eine Infektionsmethode angewandt worden war, die jeden direkten Kontakt des Virus mit der Schleimhaut der Atmungs- und oberen Verdauungswege ausschloß.

Daß der Urin der mit manifestem Rotz behafteten Pferde an sich die Eigenschaft besitzen kann, die Infektion zu übertragen, schien schon durch die älteren Untersuchungen von Erich Viborg (l. c.) festgestellt zu sein. Später konnten jedoch andere Forscher, wie Renault (l. c.) und Aureggio, seine Ansichten nicht bestätigen, vielleicht weil, wie Cadéac und Malet bemerken, die Menge des verdächtigen Harnes, den sie den Versuchstieren einimpften, zu gering war, um eine Krankheitserscheinung auslösen zu können. Diesen Mißerfolgen läßt sich aber, wie wir im folgenden sehen werden, eine ganze Reihe positiver Resultate gegenüberstellen.

Philippowicz<sup>4)</sup> stellt im Jahre 1885 mittels der Impfung auf empfängliche Tiere die Infektiosität des Harnes einer an chronischem Rotz gestorbenen Frau fest und findet den Urin rotzkranker Meer-schweinchen zweimal in gleicher Weise infektiös; dasselbe konnten später Cadéac und Malet, Kiemann<sup>5)</sup>, Weichselbaum<sup>6)</sup> und späterhin Bonome demonstrieren.

Interessant ist der Versuch von Cadéac und Malet (1886), daß nämlich Urine, die sicher mit Rotzbacillen versehen sind, für empfäng-

1) Recherches sur la morve. (Rev. vétér. Toulouse. 1886.)

2) Riforma med. 1894. No. 174—176.

3) Atti della R. Accademia di Roma. Vol. XIII. 1886—1887.

4) Wien. med. Blätter. 1885.

5) Wien. med. Wochenschr. 1888.

6) Internat. klin. Rundschau. 1888.

liche Tiere (Meerschweinchen) unschädlich sein können, wenn man sie ihnen nur in kleinen Quantitäten beibringt. Die Autoren konstatierten z. B., daß der Urin einer an chronischem Rotz leidenden Eselin 3 Meerschweinchen, denen er subkutan in einer Quantität von 3—4 ccm injiziert war, in kurzer Zeit rotzkrank machte, während ein viertes, das nur 1 ccm in derselben Weise erhalten hatte, am Leben blieb; dasselbe Resultat erhielten sie in einem anderen Falle, in welchem sie Urin von einer akut rotzkranken Eselin verwandten. Bevor also die Entdeckung des spezifischen Keimes allgemein bekannt und auf diese Untersuchung anwendbar war, und noch ehe man eine exakte Vorstellung von dem Begriffe der tödlichen Dosis eines organisierten Virus hatte, war so empirisch bewiesen worden, daß kleine Mengen des Rotzvirus unter besonderen Umständen in den Körper eines empfänglichen Tieres eingeführt werden können, ohne dort die charakteristische Krankheit hervorzurufen.

Cadéac und Malet erwähnen bei ihren Untersuchungen mit keinem Worte die Methode, die sie beim Sammeln des Urins angewandt haben; auch scheinen sie gar nicht mit der Möglichkeit gerechnet zu haben, daß während der Entleerung des Urins fremde Bestandteile, namentlich Blut, wenn auch in noch so geringen Spuren, ihm künstlich beigemischt sein und so den Wert ihrer Schlüsse hinsichtlich seiner Infektiosität stark beeinträchtigen könnten; sie ziehen außerdem das anatomische Verhalten der Nieren der 5 Tiere (Esel, Pferde), deren Urin ihnen zum Studienobjekt dient, gar nicht in Betracht.

In den späteren Untersuchungen Bonomes (l. c.) finden wir dagegen auf diese beiden wichtigen Punkte, nämlich die Technik und das Verhalten der Nieren, einen Hinweis. Bonome hat nämlich nicht nur das Vorkommen des spezifischen Bacillus in dem Urin nachgewiesen, der durch aseptische Punktion aus der Harnblase einiger künstlich rotzkrank gemachter Laboratoriumstiere (Meerschweinchen, Katzen) gewonnen war, sondern er konnte sich auch noch überzeugen, daß diese Erscheinung sich auch manchmal in denjenigen Fällen zeigte, in denen die Autopsie makroskopisch keine spezifische Lokalisation des Rotzes in den Nieren erkennen ließ. Bei der mikroskopischen Untersuchung der Nieren derjenigen Tiere, deren Harne den Rotzbacillus enthielten, hat Bonome jedoch eine ausgedehnte fettige Degeneration der Epithelien, besonders der Tubuli contorti, ferner eine Schwellung und Lösung der Zellen von der Basalmembran und reichliche Bildung von epithelialen und granulierten Cylindern im Lumen der Kanälchen gefunden. Es fand daher die Beziehung zwischen der Bakteriurie renalen Ursprunges und der Veränderung des sezernierenden Organes in diesen Beobachtungen die schönste Bestätigung.

Die Nieren sind in Wahrheit bei den großen Säugetieren sehr selten von der Rotzinfektion befallen; es finden sich jedoch dort in gewissen Fällen von chronischem Rotz Abscesse und Knoten [Baschinsky<sup>1</sup>), Nocard<sup>2</sup>)], in denen man bei direkter Untersuchung und mittels Verimpfung auf Tiere den Rotzbacillus nachweisen konnte. Unter diesen Umständen kann man sich das raschere oder langsamere Erscheinen des spezifischen Bacillus im Urin viel eher erklären, als dann, wenn es

1) Arch. f. veterin. Wissensch. 1873. Zit. v. Wladimiroff auf p. 718. Heft 9 u. 10 des Handb. d. pathogenen Mikroorganismen, hrsg. v. Kolle u. Wassermann. Jena 1903.

2) Bull. de la soc. centr. de méd. vétér. 1897. p. 628.

sich um Nieren handelt, die nur eine deutliche fettige Degeneration oder eine diffuse Entzündung des Parenchyms aufweisen. Es kommen jedoch Fälle vor, wo sich auch bei Degeneration und diffuser Entzündung der Rotzbacillus in der Niere und im Urin nachweisen läßt. Derartige Fälle sind, außer von Bonome bei den kleinen Tieren, von Besnier<sup>1)</sup> und Babes<sup>2)</sup> auch beim menschlichen Rotz mitgeteilt worden.

Meine Untersuchungen über das Vorkommen des spezifischen Bacillus im Harn und den Nieren von Pferden und einigen kleinen Säugern, die künstlich auf dem intestinalen Wege mit Rotz infiziert sind, stützen sich auf die schon seit langem bekannte Tatsache, daß es, insbesondere beim Pferde, gelingt, die Rotzinfektion mittels direkter Einführung des Virus in den Digestionstraktus hervorzurufen. Schon im Jahre 1851 hatte Renault<sup>3)</sup> die Wichtigkeit einer derartigen Ansteckungsweise erkannt, die auch Loeffler<sup>4)</sup> einige Jahre später als durchaus möglich hinstellt. Nocard<sup>5)</sup> und Schütz<sup>6)</sup> haben im letzten Decennium diese Frage wieder angeschnitten und haben sich dabei der Meinung Renaults angeschlossen, daß man nämlich im Prinzip das Vorkommen einer Rotzinfektion enterogener Natur annehmen muß, wenn sie auch nicht völlig mit seiner Erklärung der Pathogenese übereinstimmen.

Meine Beobachtungen über die Infektiosität der Urine beschränken sich jedoch nicht nur auf Tiere, die mit Rotzgift auf intestinale Wege infiziert sind. Da für die Lösung der vom Ministerium gestellten Aufgabe im Laufe der Untersuchungen außer 8 gesunden Pferden sehr viele andere kleine Tiere, namentlich Katzen und Meerschweinchen, verwendet wurden, welche größtenteils nach der subkutanen Inokulation von Bacillenkulturen oder verdächtigen, von rotzkranken Tieren stammenden Produkten an Rotz starben, so hielt ich es für praktisch, auch aus diesem Studienmaterial, welches ich meistens ohne Umstände erhalten konnte, einen Nutzen zu ziehen.

Bei der detaillierten Schilderung der Versuche halte ich es für angebracht, vorher eine kurze Beschreibung der von mir angewandten Methode zu geben.

#### Untersuchungsmethode.

Das Virus, welches aus dem bakteriologischen Laboratorium von Dr. Král in Prag stammte, wurde vor seiner Verwendung gesunden Katzen mit positivem Erfolge inokuliert. Man konnte so mittels wiederholter Passage durch für Rotz sehr empfängliche Tiere seine pathogene Wirkung noch erhöhen.

In der Absicht, die latente durch keine äußerlichen Symptome charakterisierte Infektion hervorzurufen, führte man in einigen Fällen bei Pferden, Katzen und Meerschweinchen den Kulturbelag ein, der sich bei einer gewissen Zahl von Agar- und Kartoffelkulturen in üppiger Weise entwickelt hatte, in anderen Fällen (Katzen, Meerschweinchen) brachte man den Tieren eine relativ kleine Menge von Nahrungsmitteln bei, die mit einer reichlichen Menge von Kulturen oder eiterigen aus

3) Ann. de dermat. et de syphilogr. T. II. 1891. p. 296; 1892. p. 277.

4) Arch. de méd. expér. et d'anat. pathol. 1891. p. 619.

1) Recueil de méd. vétér. 1851. p. 873.

2) Arb. a. d. kais. Gesundheitsamte zu Berlin. Bd. I. 1886.

3) Recueil de méd. vétér. T. III. 1890. p. 196 u. Bull. de la soc. centr. de méd. vétér. Sitzung vom 12. März 1896.

4) Arch. f. wissenschaftl. u. prakt. Tierheilk. Bd. XXIV. Heft 1—2. p. 1.

Rotzabscessen stammenden Exsudates bestrichen waren (die Abscesse hatten sich nach der Injektion von Rotzkulturen gebildet). Bei der Ausführung einiger dieser Experimente, die als Ziel die Erzeugung des latenten Rotzes hatten, sorgte man dafür (wie auch im folgenden bei der genauen Schilderung der einzelnen Fälle erwähnt werden wird), daß die oberen Luftwege (Fauces, Choanen, Pharynx etc.) vor der Berührung mit septischem Material geschützt wurden. Man brachte zu diesem Behufe das Virus vor seiner Einverleibung erst mitten in besondere teigige und impermeable große Pillen (Boli), die aus Althee, Honig und Lakritzenpulver bestanden und außen mit Vaseline bestrichen waren, oder man tat das Virus in feste Gelatine kapseln, die manchmal mit einer Schicht der oben beschriebenen Paste umhüllt wurden.

In einer zweiten Serie von Experimenten wurde dagegen die Rotzinfektion auf andere Weise hervorgerufen. Man inokulierte (Katzen und Meerschweinchen) subkutan Kulturen oder infektiöse Organsäfte (Exsudate, Organbrei) oder wischte (beim Pferde) einen Kulturbelag auf die mittels Skarifikationen blutend gemachte Nasenschleimhaut oder führte auch direkt große Mengen von Bouillonkultur in das Blut ein (Esel), worauf sich dann die klassischen Symptome der akuten Infektion einstellten.

Der Urin wurde in verschiedenen Zeiträumen nach der Infektion gesammelt, manchmal nach wenigen Stunden, manchmal nach 1 oder 2 Tagen oder nach einigen Wochen und Monaten. Man wollte dadurch, auch bei mit denselben technischen Maßnahmen angestellten Experimenten, den Augenblick der Untersuchung variieren, in dem man nach Möglichkeit als Indikation das Auftreten einer allgemeinen Reaktion des Organismus auf die Einführung des Virus betrachtete (Fieber, Prostration, Appetitlosigkeit etc.).

Die Untersuchung des Harnes wurde nach Möglichkeit unter Beobachtung der üblichen Regeln der Asepsis vorgenommen, indem man ihn aus der Harnblase durch einen Katheter oder durch Punktion mittels einer ausgeglühten Hohl nadel entnahm. In vielen und besonders denjenigen Fällen, wo es von Interesse war, während der Dauer der Infektion ohne Schaden für das Tier mehrmals den Urin zu untersuchen, wurde der spontan entleerte Harn gesammelt. Man verfuhr dabei nach einer Methode, welche die größte Gewähr nicht nur für seine Sterilerhaltung bot, was man auch bei noch so vorsichtigem Vorgehen bei Katheterismus nur sehr selten erreicht, sondern ihn auch vor einer eventuellen Verunreinigung mit Rotzbacillen nach seiner Entleerung schützte. So wandte ich bei männlichen Pferden, bei denen die Katheterisierung schmerzhaft und nicht leicht gewesen wäre, die Methode der permanenten Applikation von Gummiblasen an, die 2 bis 3 l Urin faßten und sich leicht desinfizieren ließen. Sie hatten eine enge Oeffnung und paßten auf die Glans penis; in ihrer Lage wurden sie durch kreuzweise unter dem Bauche des Tieres verlaufende und auf dem Rücken zusammengeknottete Binden gehalten. Bei Katzen und Meerschweinchen sammelte ich dagegen den Urin, welcher von einer geneigten Zinkplatte auf den aus Zement bestehenden Boden des Käfigs abfloß, der dann jedesmal hinterher desinfiziert wurde.

Bei der bakteriologischen Untersuchung wurde nach den allgemein üblichen Methoden verfahren, nämlich direkte bakterioskopische Untersuchung, Inokulation von für Rotzinfektion empfänglichen Tieren (Katzen, Meerschweinchen) mit dem Exkrete und Verimpfung desselben auf die

gewöhnlichen Nährböden; die morphologisch verdächtigen Keime wurden dann isoliert und die entstandenen Kulturen eventuell in neue Tiere injiziert. Allen diesen verschiedenen technischen Prozeduren war hauptsächlich das aseptisch durch Zentrifugieren gewonnene Sediment des Urins und auch der Rückstand unterworfen, den man beim Filtrieren des Harns durch große, vorher sterilisierte Chamberland-Kerzen (Marke F) erhalten hatte. Es ist dies das alte schon von Loir<sup>1)</sup> für die bakteriologische Wasseruntersuchung empfohlene Verfahren, welches, wie man wohl versteht, vor vielen anderen den Vorzug hat, daß es eine starke Konzentration der Keime bewirkt und die Untersuchung großer Flüssigkeitsmengen gestattet.

Untersuchungen über den Grad der Resistenz des Rotzvirus im Kontakt mit Urin und über sein Wachstumsverhalten in urinhaltigen Medien.

Wie schon in einer anderen Arbeit von mir über ein dem vorliegenden sehr nahestehendes Thema<sup>2)</sup>, so schien es mir auch in diesem Falle unerlässlich zu sein, mir einige sichere Kenntnisse über die Resistenz des Virus im Urin einiger gesunder und rotzkranker Tiere und über sein Verhalten bei der Entwicklung auf künstlichen Nährböden zu verschaffen, denen verschiedene Mengen von Urin hinzugefügt waren. Derartige Kenntnisse waren, abgesehen von ihrer zweifellosen Bedeutung für die Prophylaxe des Rotzes und für die Biologie seines Erregers im allgemeinen, für mich besonders wertvoll, da sie mir, sozusagen, das Terrain für die bakteriologische Untersuchung derjenigen Urine vorbereiteten, welche im Verdacht standen, den oben erwähnten Mikroorganismus zu enthalten.

Ueber diese gewissermaßen einleitenden Versuche will ich hier kurz berichten.

Die Untersuchungen über die Resistenz des Virus im Urin wurden an Pferde-, Esel-, Katzen- und Menschenharn angestellt. Bei jedem Versuche wurde die Sterilität des Urins, der mit den Rotzbacillen in Berührung gebracht werden sollte, mittels Verimpfung auf Agarplatten festgestellt. Es wurde so irgend welche Einwirkung anderer Mikroorganismen auf den Rotzbacillus ausgeschaltet, so daß bei diesen Versuchen einzig und allein die Wirkung des Harns zur Geltung kam. Noch eine andere Vorsichtsmaßregel mußte im Verlaufe dieser Untersuchungen beobachtet werden: Dem Harn durften nämlich nicht die geringsten Spuren von Nährmaterial zugefügt werden, die ihn eventuell zu einem für die Konservierung des Rotzbacillus geeigneteren Medium gemacht hätten, als er es in reinem Zustande gewesen wäre. Um diesem Umstande Rechnung zu tragen, pflegte ich mir jedesmal eine dünne Suspension von Rotzbacillen in einem indifferenten Medium herzustellen, indem ich zu einer Rotzkultur auf schiefem Agar einige Kubikcentimeter sterilen Wassers hinzufügte und damit umschüttelte. Von dieser im Augenblicke des Gebrauches hergestellten Bacillensuspension fügte ich 3–4 Tropfen zu 2–3 ccm frischen, aseptisch gewonnenen Harnes hinzu.

Im Verlaufe dieser Untersuchungen konnte ich mich überzeugen, daß der Urin, insbesondere vom Pferde und Esel, ein dem Rotzbacillus

1) Cf. Thoinot et Masselin, *Precis de microbie*, Paris 1889, p. 366.

2) Zieglers Beitr. Bd. XXXV. 1904, p. 536 (unter Mitwirkung von F. Tessaro).



sehr wenig zusagendes Medium ist. Im Urin des Esels<sup>1)</sup> z. B. unterliegt das Rotzvirus schon nach 20—22-stündigem Kontakt tiefgreifenden Veränderungen sowohl in seinen vegetativen als auch morphologischen und mikrochemischen Eigenschaften. Nach diesem Zeitraume zeigen die Bacillen unter dem Mikroskop merkwürdige Strukturveränderungen; sie sind dick, geschwollen, die kürzeren nehmen das Aussehen von Kokken oder Kokkobakterien an; manchmal bewahren sie auch die Form von Stäbchen und schwellen an ihrem einen Ende keulenförmig an. Bei der Untersuchung im hängenden Tropfen sieht man sie meistens in einfacher schwingender Bewegung und manchmal in kleinen Häufchen zusammenliegen, als wären sie agglutiniert. Während das Ziehlsche Karbolfuchsin die aus Kulturen oder Organsäften herrührenden Rotzbacillen gewöhnlich nur schwach färbt und in vielen Fällen in ihrem Zentrum einen hellen Fleck erkennen läßt, färbt es in sehr kräftiger und gleichmäßiger Weise die Bacillen, die sich ungefähr 20 Stunden im Eselurin befunden haben. Soweit man überhaupt aus dem Verhalten der Bacillen dieser energisch färbenden Substanz gegenüber einen Schluß ziehen kann, muß man annehmen, daß auch der innere Chemismus des Mikroorganismus schon nach einem Aufenthalt von einigen Stunden im Urin eine tiefgreifende Modifikation erfährt.

Den oben erwähnten Veränderungen der Form und Färbbarkeit entsprechen einige andere Modifikationen der Entwicklung des Bacillus auf den gewöhnlichen künstlichen Nährböden. Schon nach 20—22 Stunden wurden einige Bacillenformen vernichtet oder wenigstens der Fähigkeit beraubt, sich auf einem Nährboden, wie z. B. Agar, zu entwickeln, auf dem sie doch sonst gut gedeihen. In der Tat ist die Zahl der Kolonien, welche sich bei einer nach dieser Zeit erfolgenden Ueberimpfung aus dem die Rotzbacillen in Suspension enthaltenden Urin entwickeln, bei weitem geringer als bei einer Verimpfung, die nach derselben Methode in dem Augenblicke, wo man das Virus dem Harn hinzufügt, gemacht wird. Die Kolonien nahmen an Zahl in den folgenden Stunden immer mehr ab: Bei einem Experimente gelang es mir schon nach 30 Stunden nicht mehr, Impfungen mit positivem Ergebnisse zu erzielen, und zwar handelte es sich in jenem Falle um einen Harn, den man von einem Esel zur Zeit einer starken spontanen Temperatursteigerung entnommen hatte, welche durch die Infektion bedingt war. Vielleicht war der Gehalt an Salzen, welche den Rotzbacillus beeinflussen, proportionaliter höher, als er sonst im nicht febrilen Urin ist.

Ein ähnliches Verhalten kann man bei den Rotzbacillen konstatieren, wenn man sie in Kontakt mit Pferde-, Katzen- und Menschenurin läßt. Hinsichtlich des Pferdeharns ist es sicher, daß ein guter Teil, vielleicht sogar der größte, der schädigenden Wirkung, die er auf den Rotzbacillus ausübt, auf Rechnung der Hippursäure kommt; ja man muß sogar glauben, daß einige der normalen chemischen Harnbestandteile (Phosphate, Chloride, organische Substanzen etc.) zur Abschwächung dieses schädlichen Einflusses der Hippursäure auf das Rotzvirus dienen; nach meinen Untersuchungen genügt es nämlich, die Rotzbacillen nur 15 Stunden lang in eine Hippursäurelösung zu bringen, in der die Säure in demselben Verhältnisse wie durchschnittlich<sup>2)</sup> im Pferdeharn (2,6 Proz.) enthalten ist, um die Bacillen völlig zu vernichten.

1) Man bemerke, daß ich den Urin eines jungen, von akutem Rotz befallenen Esels verwandt habe.

2) Lupinacci e Baruchello, Vademecum di veterinaria militare. Udine 1891.

Für das Bestehen dieses kompensierenden Einflusses spricht die Tatsache, daß ich sogar erst kürzlich aus einer Mischung von Rotzbacillen mit gesundem Pferdeharn noch nach 4 Tagen Ueberimpfungen mit positivem Resultate erhielt, wenn auch die Zahl der entstandenen Kolonien sehr klein war. Die Mischung war in der gewohnten Weise hergestellt worden, d. h. man hatte in 3 ccm Pferdeurin 3 Tropfen einer dünnen, mittels sterilen Wassers hergestellten Bacillensuspension fallen lassen.

Im Gegensatz hierzu steht das Ergebnis einiger früherer zur Bestimmung der Resistenz des Rotzbacillus angestellter Versuche, bei denen die Ueberimpfungen schon negativ ausfielen, als die Bacillen erst 33 bis 35 Stunden in Kontakt mit Urin gewesen waren; der betreffende Harn stammte von denjenigen Pferden, die durch Einführung großer Mengen von Virus in den Verdauungstraktus künstlich rotzkrank gemacht worden waren.

Demnach steht fest, daß der Urin rotzkranker Pferde auf den Rotzbacillus einen etwas energischeren vernichtenden Einfluß ausübt als der Urin gesunder Pferde.

Die Resultate, welche ich oben bezüglich der Resistenz des Virus im Urin des rotzkranken Esels angeführt habe, sind vielleicht auch durch den obigen Umstand bedingt.

Die Hypothese, welche die beste Erklärung für die oben erwähnten Dinge gibt und deshalb am meisten Beachtung verdient, ist folgende: Aus dem Blute der rotzkranken Tiere gehen in größerer oder geringerer Menge spezifische Antikörper in den Urin über, welche, da sie ihm eine energischere vernichtende Wirkung auf den Rotzbacillus verleihen, in ihm wenigstens zum großen Teile unverändert existieren müssen.

Man begreift leicht, daß dieser natürlichen Erscheinung eine große Bedeutung, namentlich in epidemiologischer Hinsicht, zugeschrieben wird, da sie nämlich eine andere besondere Art von Schutz- und Verteidigungsmaßregel darstellt, die schon während der Infektion im Organismus existiert und auch außerhalb desselben bestehen bleibt, da der durch die Harnwege entleerte Bacillus in ununterbrochener Berührung mit den bakteriziden Substanzen ist.

Sehr interessant scheinen mir auch die Resultate bezüglich der Virulenz des Rotzbacillus nach seinem Aufenthalte im Urin des rotzkranken Esels und Pferdes zu sein.

Mit dem Erscheinen der oben erwähnten morphologischen, mikrochemischen und vegetativen Veränderungen, die um so ausgeprägter sind, je länger der Bacillus mit dem Harn in Berührung bleibt, tritt auch noch eine andere Reihe von Erscheinungen auf, welche seine fundamentale biologische Eigenschaft, d. h. seine Pathogenität, betreffen.

Der Rotzbacillus wird im allgemeinen im Urin abgeschwächt; so sah ich in zahlreichen Fällen bei Meerschweinchen nach subkutaner Injektion beträchtlicher Mengen von Rotzbacillen, die einen Tag oder nur wenig länger im Harn gelegen hatten, nur eine einfache lokale Reaktion auftreten; diese bestand in einem harten Knötchen, das selten größer als eine Bohne war, eine fast fibröse Konsistenz hatte und, ohne im Zentrum zu erweichen und zu vereitern, nach 12—15 Tagen heilte. Wenn man nicht durch aseptische Punktion dieses Knötchens am 4. bis 5. Tage seiner Entwicklung und nachfolgender Verimpfung der er-

haltenen blutig-serösen Flüssigkeit auf Agar typische Rotzkolonien erhalten können, so wäre man in Versuchung gekommen, diese Knötchen nicht für ein entzündliches Produkt, sondern nur für die Folgen der durch die chemischen Harnbestandteile hervorgerufenen Reizung anzusehen.

Je länger die Bacillen mit dem Harn in Berührung bleiben, um so mehr wird ihre Virulenz abgeschwächt, so daß man schließlich nach durchschnittlich 3—4 Tagen mit dem betreffenden Urin keine Infektion mehr hervorrufen kann.

Ich möchte jedoch auf einen sehr sonderbaren Befund aufmerksam machen: Es kann nämlich vorkommen, daß man aus dem Urin eines rotzkranken Pferdes und Esels, dem 38—40 Stunden vorher in der oben beschriebenen Weise Rotzbacillen in großer Zahl beigemischt sind, vergeblich neue Ueberimpfungen auf den gewöhnlichen Nährböden wie Agar und Bouillon zu erhalten sucht. Dagegen ruft eine subkutane Injektion von 1,5—2 ccm dieses selben Harns beim Meerschweinchen gegen alle Erwartung eine lokale knötchenförmige Reaktion hervor, die unzweifelhaft spezifischer Natur ist, da man aus ihr nach bestimmter Zeit mittels aseptischer Punktion Reinkulturen des Rotzbacillus erhalten kann. Bei der Katze besonders, welche viel empfänglicher für das Rotzvirus als das Meerschweinchen ist, kann man unter analogen Umständen ein atonisches Geschwür mit granulierendem Grunde erhalten, welches von einer ausgebreiteten ödematösen Zone umgeben ist und nur langsam heilt. Weder das Meerschweinchen noch die Katze sterben nach einer derartigen Behandlung an Rotz; denn die Infektion äußert sich nur am Orte der Inokulation, und das Tier kann wieder völlig hergestellt werden. Diese Resultate berechtigen im letzten Grunde zu folgender Meinung: Im Gegensatze zu dem Verhalten, welches die meisten kultivierbaren pathogenen Virus (Milzbrand, Typhus, Cholera etc.) zeigen, existiert in der Entwicklung des Rotzbacillus eine Periode *sui generis* von vitaler Inaktivität, in der dieser Bacillus die Fähigkeit verliert, sich auf den gewöhnlichen künstlichen Nährböden zu entwickeln, während er in Wirklichkeit fähig ist, sich zu vermehren und die Krankheit, wenn auch in gutartiger Form, hervorzurufen, wenn man ihn nur unter diejenigen günstigen äußeren Bedingungen versetzt, die ihm der Körper eines empfänglichen Tieres darbietet.

Es handelt sich also um eine besondere Form von Abschwächung, die von der anderer pathogener Mikrophyten ganz verschieden ist; denn diese wachsen im Stadium der Abschwächung sehr gut auf den künstlichen Nährböden.

Es folgt daraus, daß der Urin eines rotzkranken Tieres, der sich zwar als eine zur Konservierung des Rotzbacillus ungeeignete Flüssigkeit darstellt, doch manchmal hinsichtlich der Uebertragung der Krankheit gefährlich werden kann, auch wenn er sich auf unseren gewöhnlichen Nährböden unproduktiv erweist.

Eine andere Reihe von Beobachtungen habe ich ausgeführt, um festzustellen, bis zu welchem Grade der Rotzbacillus im stände wäre, seine Virulenz zu bewahren, wenn man ihn nach seinem Aufenthalte im Urin eines rotzkranken Pferdes bei der Temperatur der Umgebung austrocknen läßt; es sollte mit anderen Worten die infizierende Wirkung des Rotzharns im Zustande der Trockenheit, der eine Folge seiner natürlichen Verdunstung ist, bestimmt werden.

Zu diesem Zwecke goß ich in eine auf schrägem Agar befindliche Rotzkultur, die aus den Lungenknötchen eines Pferdes stammte, ein wenig sterilen und eiweißfreien Urins eines rotzkranken Pferdes. Um das Lösen des Agarbelages zu erleichtern, schüttelte ich das Röhrchen und verschaffte mir so eine sehr dichte und homogene Suspension mit reichlichem Gehalt an virulenten Bacillen. Mit dieser tränkte ich dicke Fäden aus steriler Seide, welche ich dann nebeneinander in eine durch trockene Hitze sterilisierte Petrische Doppelschale legte. Die beiden Hälften der Schale wurden durch eine ganz dünne Baumwollenschicht auseinandergehalten, so daß die Verdunstung des Harns in den Fäden begünstigt und ihre Austrocknung bei der Zimmertemperatur (22–26°) erleichtert wurde. Brachte man eine bestimmte Anzahl dieser Fäden (bis zu 4) 10–48 Stunden nach dem Zeitpunkte, in dem sie in die Petrische Schale gelegt wurden, einigen Katzen unter die Haut, so erwiesen sie sich schon nach 20 Stunden als vollkommen unschädlich.

Eine letzte Gruppe von Untersuchungen beschäftigt sich mit der Entwicklungsfähigkeit des Rotzbacillus auf Nährböden, denen Urin rotzkranker Pferde hinzugefügt ist. Ich beschränke mich hierbei nur auf die Bemerkung, daß ich, abgesehen von einer gewissen Verzögerung in der Entwicklung und abgesehen von dem Auftreten einiger unerheblicher Formveränderungen, nicht in der Lage war, eine andere beachtenswerte Anomalie zu entdecken. Die morphologischen Veränderungen, denen der Rotzbacillus z. B. in einer Bouillon unterworfen ist, die ungefähr  $\frac{1}{8}$ – $\frac{1}{10}$  ihres Volumens Urin enthält, haben eine entfernte Ähnlichkeit mit denen, die der Bacillus nach seiner Berührung mit normalem Urin zeigt. Ich halte es jedoch für unklug, wenn man der Bouillon zu große Mengen Urin hinzufügt, um dadurch die Wahrscheinlichkeit, ein positives Resultat bei der Untersuchung des Bacillus zu erhalten, zu vergrößern. Mir hat eine Mischung von Bouillon und Urin zu gleichen Teilen, der ich eine Oese Rotzbacillenkultur hinzugefügt und sie dann in den Thermostaten gestellt hatte, nach 3 Tagen auch bei Verimpfung auf eine Katze ein negatives Resultat ergeben.

Will man also eine ziemlich beträchtliche Menge verdächtigen Harns (8–10 ccm) einer kulturellen Untersuchung unterziehen, und zwar nach der ganz einfachen Methode der Bouillonkultur, so halte ich es für eine Grundregel, sie in kleinen Portionen auf mehrere Röhrchen zu verteilen oder sie mit einem Male in einem Kolben auszüsäen, welcher eine Quantität Bouillon enthält, die 15–20mal größer als die zu untersuchende Harnmenge ist. Bei Befolgung dieser Vorschrift hat man auch noch den Vorteil, die mikroskopische Untersuchung und eventuell die Inokulation der verdächtigen Kultur in Katzen oder Meerschweinchen viele (10–12) Tage nach der Aussäung des Urins vornehmen zu können. Dieses bequeme Verfahren (das im Verlaufe zahlreicher Untersuchungen zur Notwendigkeit werden kann) würde große Gefahren wegen des schon erwähnten Einflusses des Harns auf die morphologischen und pathogenen Eigenschaften des Rotzbacillus in sich bergen, wenn man es bei sehr starken Bouillon-Uringemischen benützte.

Nach diesen Ausführungen gehe ich zur Schilderung der Experimente über, welche das Verhalten des Rotzbacillus im Harn der rotzkranken Tiere zum Gegenstande haben. Ich brauche wohl nicht zu erwähnen, daß ich während ihrer Ausführung immer die bis dahin bekannten Ergebnisse vor Augen hatte.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

## Vergleichende Untersuchungen über den Einfluss hoher Temperaturen auf die Virulenz trockener und glycerinierter Kuhpockenlymphe.

[Aus dem schweizerischen Serum- und Impfinstitute in Bern.]

Von Dr. med. A. Carini,

Privatdozent an der Universität und Chef der Vaccineabteilung.

Mit 3 Figuren.

Die Untersuchungen von Lemoine<sup>1)</sup>, Sbriscia<sup>2)</sup>, Negri<sup>3)</sup>, Maggiora<sup>4)</sup>, Frassi<sup>5)</sup>, Galli-Valerio und Felix<sup>6)</sup>, Carini<sup>7)</sup>, die darauf gerichtet waren, eine Methode ausfindig zu machen, vermitteltst welcher eine raschere Reinigung der Lymphe zu stande käme, haben sämtlich ergeben, daß die glycerinierter Lymphe bei einer Temperatur von 37° C in wenigen Tagen ihre spezifische Wirkung einbüßt.

Der gleiche Vorgang, wie er bei der künstlich erzeugten Wärme des Brutschrankes stattfindet, spielt sich nun auch unter den natürlichen Temperaturverhältnissen der heißen Länder ab. Alle jene Institute wissen, wie rasch die bei der dortigen Zimmertemperatur aufbewahrte Lymphe ihre Virulenz verliert, und dieser Umstand ist es, welcher in den tropischen Ländern die Darstellung der Lymphe erschwert und somit der Verbreitung der Schutzimpfung unter einer Bevölkerung, die häufig von schweren Pockenepidemien heimgesucht wird, hinderlich ist.

Bedenkt man, daß bei dieser Bevölkerung, wo anderweitige Maßnahmen, wie Isolierung und Desinfektion, kaum durchführbar sind, die Vaccination die einzige Waffe gegen die Seuche darstellt, so begreift man, wie wünschenswert die allgemeine Einführung der prophylaktischen Impfung in jenen Gegenden wäre.

Gelegentlich des internationalen hygienischen Kongresses in Brüssel kam in der Sektion für Kolonialhygiene die Pockenprophylaxis in den heißen Ländern zur Besprechung und die Berichterstatter<sup>8)</sup> hoben dabei ausführlich die Schwierigkeiten hervor, denen man dort bei der Darstellung und der Konservierung der Lymphe begegnet. In der sich daran anschließenden Diskussion teilte Layet mit, daß die Lymphe, die er nach dem Senegal, dem Sudan, nach Madagaskar und anderen Gegenden versandte, stets bessere Resultate ergab, wenn sie abging, „non sous forme de vaccin broyé ou trituré, c'est-à-dire en état de substance vaccinale non trituré, ayant macéré préalablement plus ou moins longtemps depuis le jour de la récolte et telle quelle dans une certaine proportion de glycérine neutre stérilisée“.

1) Lemoine, Sem. méd. 1897. No. 15.

2) Sbriscia, Il Policlinico. Vol. VIII. Med. 1902.

3) Negri, Boll. della Soc. Med. chir. di Pavia. 1903.

4) Maggiora, Arch. di farm. sper. e scienze affini. Vol. II. 1904.

5) Frassi, La clinica moderna. Anno X. 1905.

6) Galli-Valerio e Felix, Bull. de la Soc. vaud. de Sc. nat. 1905.

7) Carini, Riv. d'Ig. e San. pubbl. Anno XVI. 1905.

8) Guérin, La prophylaxie de la variole dans les pays chauds. (Congrès intern. d'hyg. et démogr. Bruxelles 1903. — Grijns, La prophylaxie de la variole dans les pays chauds. Culture et transport du vaccin. Variolisation et culture du virus varicelleux. (Ibid.)

Ebenso berichtete Wurz<sup>1)</sup>, daß er mit getrockneter und pulverisierter Vaccine noch nach Monaten, während welcher Zeit sie sehr hohen Temperaturen ausgesetzt war, gute Resultate erzielt habe.

Calmette<sup>1)</sup> teilte mit, daß im Impfinstitut in Lille die Lymphe zwecks besserer Konservierung trocken bereitet und in Serumalbumin (Pferdeserum bei 55° inaktiviert) eingeschlossen wird.

Bereits in den in den letzten Dezennien erschienenen Publikationen über die Pockenschutzimpfung wird die Frage der trockenen Lymphe vielfach berührt, und man findet häufig die Meinung vertreten, daß Lymphe in dieser Form länger ihre Virulenz behält als im glycerinierten Zustand. So gibt z. B. Antony<sup>2)</sup>, Busquet<sup>3)</sup>, Ciaudo<sup>4)</sup>, Reissner<sup>5)</sup>, Schulz<sup>6)</sup>, Peisser<sup>7)</sup>, Layet<sup>8)</sup>, Lolagade<sup>9)</sup>, Fürst<sup>10)</sup> u. s. w. an, daß trockene Lymphe ihre Wirksamkeit 2—3 Jahre lang bewahren kann. Die Anwendung der trockenen Lymphe in pulverförmigem Zustande hatte damals schon Ausbreitung gefunden, und vor ca. 20 Jahren stellten viele Institute den Impfstoff häufig in solcher Form dar. Erst unter dem Einfluß der Entwicklung unserer bakteriologischen Kenntnisse ist dieser Darstellungsmodus wieder verlassen worden, und zwar hauptsächlich, nachdem man die wertvolle Eigenschaft des Glycerins, die Vernichtung der sekundären Keime der Lymphe ohne Alteration der Vaccinationswirksamkeit, kennen lernte und man sich dessen voll bewußt wurde, daß in der trockenen Lymphe die Keime lange Zeit leben bleiben und bei Uebertragung auf den Menschen zu Komplikationen führen können.

Für die Behauptung jedoch, daß trockene Lymphe ihre Aktivität besser bewahre als glycerinierte, liegt kein experimenteller Beweis vor, da die Tatsache allein, daß die von den Impfinstituten nach tropischen Ländern versandte trockene Lymphe manchmal ihre Wirksamkeit beibehalten hat, nicht ohne weiteres als einwandsfreie Bestätigung dienen kann. Seit Jahren verwendet unser Institut glycerinierte Lymphe — sei es als Stammlymphe für Tierimpfungen oder als Impfstoff für die Vaccination bei Menschen — nach heißen Ländern, wie z. B. Südafrika, Mexiko, Peru, Persien, Indien etc., und aus den Berichten, die wir erhalten, geht ebenfalls hervor, daß unsere Lymphe sich an den Bestimmungsorten häufig als gut wirksam erwiesen hat<sup>11)</sup>.

Um die Sicherheit zu gewinnen, daß trockene Lymphe eine größere Resistenz gegenüber hohen Temperaturen besitzt als die glycerinierte,

1) Layet, Wurz, Calmette, Compt. rend. du Congrès int. d'hyg. Bruxelles 1903. T. VIII. Bruxelles 1903.

2) Antony, Recherches sur la valeur relative des différentes préparations vaccinales. (Arch. de méd. milit. 1893.)

3) Busquet, Nouveau traité de la vaccine. Paris 1848.

4) Ciaudo, Du vaccin de genisse. Nice 1881.

5) Reissner, Ueber eine einfache Methode zur Aufbewahrung tierischen Impfstoffes als Grundlage einer allgemeinen Einführung der animalen Impfung. (Deutsche med. Wochenschr. 1881. No. 30.)

6) Schulz, Impfung, Impfgeschäft und Impftechnik. Berlin 1888.

7) Peisser, Die Schutzpockenimpfung und ihre Ausführung. Wien 1888.

8) Layet, Traité pratique de la vaccination animale. Paris 1889.

9) Lalagade, Etudes pratiques sur la vaccine. Paris 1889.

10) Fürst, Die gegenwärtigen Methoden zur Konservierung animaler Vaccine. (Berl. klin. Wochenschr. 1883.) — Der gegenwärtige Stand der animalen Vaccination. (Klin. Vorträge. Innere Med. 1891. No. 12.)

11) Es ist allerdings zu berücksichtigen, daß es sich meist um Orte handelte, die nicht sehr weit von der Küste lagen, und daß die Lymphe während des Transportes in gewisser Weise vor schädigenden Einflüssen geschützt war.

sind vergleichende Versuche erforderlich, die an einer von dem gleichen Tier gewonnenen Lymphe angestellt sind, da die Aktivität der Lymphe bei verschiedener Herkunft auch verschieden sich verhalten kann.

Die einzigen experimentellen Untersuchungen, die wir in der Literatur gefunden haben, stammen von Blaxall<sup>1)</sup>, welcher Lymphe im Vacuum über Acid. sulfuricum trocknete und dieselbe bei Verimpfung auf Kälber nach 5 Monaten noch voll wirksam fand. Obgleich Blaxall anerkennt, daß noch weitere Versuche in dieser Richtung erforderlich sind, so glaubt er trotzdem, daß seine bisherigen Resultate ihn zu der Behauptung berechtigen, daß die trockene Lymphe vom Temperaturwechsel und vom Feuchtigkeitsgehalt der Luft weniger abhängig ist als die glycerinierte.

Der ungünstige Einfluß, den hohe Temperaturen auf glycerinierte Lymphe ausüben und die daraus namentlich im Hinblick auf die gewünschte Verbreitung der Vaccination in den tropischen Ländern sich ergebende Notwendigkeit, einen Modus der Darstellung zu finden, bei dem die spezifische Aktivität weniger schädigenden Einwirkungen ausgesetzt ist — und andererseits die von der modernen Forschung konstatierte Tatsache, daß Fermente und Bakterien in trockenem Zustande eine größere Resistenz gegenüber der Wärme besitzen, haben uns Anlaß gegeben, das Studium der beregten Frage von neuem aufzunehmen.

Im Anfang unserer Untersuchungen gingen wir in der Weise vor, daß wir Impfstoff, der von ein und demselben Tiere stammte, in trockener und glycerinierter Form darstellten und davon Proben an Impfinstitute der tropischen Gegenden versandten. Wir haben aber diese Methode bald verlassen, da wir über die mit unseren Präparaten erzielten Resultate nur selten Bericht bekamen und zudem eine direkte Kontrolle unmöglich war. Wir entschlossen uns deshalb, unsere Versuche bei Brutwärme im Thermostaten anzustellen.

Was die Darstellung der trockenen Lymphe anbetrifft, so verfahren wir dabei, wie folgt: Der Impfstoff wird sofort nach der Ernte auf Tonteller ausgebreitet und, vor Licht geschützt, im Vacuum über Acid. sulfuricum und Kal. caust. bei einer Temperatur von 18–20° C getrocknet. Nach 24–48 Stunden ist das Präparat genügend trocken und kann nun im sterilen Mörser zu einem feinen Pulver verrieben werden. Zu bemerken ist dabei, daß das Präparat bei unserem Verfahren etwa  $\frac{2}{3}$  seines Anfangsgewichts verliert.

Während der ersten Versuche hatten wir dieses Pulver in Glasgefäßen mit eingeschliffenem Stöpsel aufbewahrt; später jedoch schlossen wir es, um den Einfluß des Sauerstoffs und die Feuchtigkeit der Luft auszuschalten, in kleine Glasröhrchen ein, deren offenes Ende nach Auspumpen der Luft zugeschmolzen wurde.

Zu den eigentlichen Versuchen wurden im ganzen 7 verschiedene Lymphen benützt, die alle von verschiedenen Tieren stammten. Man ging dabei so vor, daß man von jeder Lymphe trockene und glycerinierte Präparate herstellte, dieselben im Thermostaten bei 37° C beließ, um davon von Zeit zu Zeit kleine Proben zu entnehmen und sie bis zum Moment des Gebrauchs im Kühlraum aufzubewahren.

Bei der Prüfung wurden sodann die einzelnen Proben bei dem gleichen Impftiere in Gruppen von je drei Incisionen eingimpft und so

---

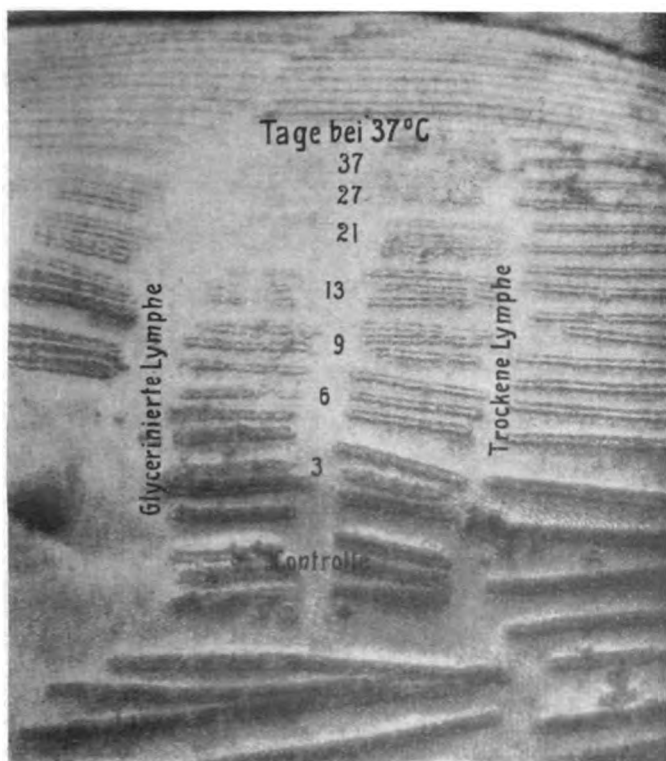
1) Blaxall, The effect of desiccation on calf lymph. (Ann. Rep. of the med. off. of the loc. gov. Board 1900—01. London 1902.)

konnten die durch die verschiedenen Präparate erzeugten Eruptionen vergleichsweise beobachtet und damit auch die Abstufungen in ihrer Virulenz leicht beurteilt werden.

Die pulverisierte Lymphe wurde vor der Impfung mit Glycerin angerieben; nur in den ersten Versuchen brachte man das Pulver direkt auf die Incision, ein Verfahren, das bei derartigen Versuchen aus verschiedenen Gründen jedoch nicht zu empfehlen ist.

Die Impfung geschah unter strenger Befolgung aller jener Maßnahmen, die erfahrungsgemäß geeignet sind, eine Uebertragung der Impfstoffe aus benachbarten Impfpunctionen zu verhindern.

Außerdem wurde die Vorsicht gebraucht, die Impfungen stets mit den weniger virulenten Präparaten zu beginnen, mit den virulenteren fortzufahren und die einzelnen Impfstoffe so anzubringen, daß die Impfstriche mit der schwächeren Lymphe die oberen Parteen, diejenigen mit den virulenteren Präparaten die abhängigen Parteen des Impffeldes einnahmen. Durch die Befolgung dieser Maßregel entgeht man eventuellen Täuschungen, die dadurch entstehen können, daß virulenter Lymphe auf das Nachbargelände, wo die Impfungen der schwächeren Präparate sich befinden, etwa durch fließendes Blut übertragen wird. Die nachstehenden Tabellen geben Aufschluß über die Resultate unserer diesbezüglichen Versuche.



Photogramm 1. Lymphe No. 897 auf Tier No. 913 geprüft.



## Lympe No. 869 abgenommen am 6. X. 1904.

Geprüft an Impf- tier No.	am	Art des Präparates	Aufbewahrt im Kühlraum	Eingestellt im Brutschrank bei 37° C während									
				... Tagen									
				1	2	3	4	5	6	7	8	30	
875	20. X. 04	Glyceriniert	+++	+++	+++	++	++	++	+	+	+		
		Trocken	++	++	++	+	+	+	+	+	+		
877	20. X. 04	Glyceriniert	+++	+++	++	++	++	++	+	+	+		
		Trocken	++	+	+	+	+	0	+	+	+		
887	23. XI. 04	Glyceriniert	+++			++		++			++		
		Trocken	+++			+++		+++			+++		
889	23. XI. 04	Glyceriniert	+++			+++		+++			++	0	
		Trocken	+++			+++		+++			++	++	
891	30. XI. 04	Glyceriniert	+++				++				+	0	
		Trocken	+++				++				++	*	
897	7. XII. 04	Glyceriniert	+++									0	
		Trocken	+++									++	
917	24. II. 05	Glyceriniert	+++				++				0	0	
		Trocken	+++				++				++	+	
961	26. VI. 05	Glyceriniert	+			0			0				
		Trocken	+			0			0				

Die widersprechenden Resultate, die mit trockener Lympe 869 am Impftiere 875 und 877 erzielt wurden, sind dadurch zu erklären, daß das Pulver von grobkörniger Beschaffenheit war und ohne Glycerinzusatz gebraucht wurde, Momente, die einen innigen Kontakt zwischen Impfstoff und Wundfläche wohl erschwerten.

## Lympe No. 880 abgenommen am 8. XI. 1904.

Geprüft an Impf- tier No.	am	Art des Präparates	Aufbewahrt im Kühlraum (Kontrolle)	Eingestellt im Brutschrank bei 37° C während									
				... Tagen									
				2	4	6	8	10	12	16	18		
889	23. XI. 04	Glyceriniert	+++	+++	++	++	+	+					
		Trocken	+++	+++	++	++	++	++					
891	30. XI. 04	Glyceriniert	++					0		0			
		Trocken	++					+		*			
909	1. II. 05	Glyceriniert	+++	++		+		0		0			
		Trocken	+++	++		++		+		+			
917	24. II. 05	Glyceriniert	+++			+			0		0		
		Trocken	+++			+			*		0		
959	31. V. 05	Glyceriniert	++	0			0		0				
		Trocken	++	0			0		0				
961	2. VI. 05	Glyceriniert	+	0			0		0				
		Trocken	+	0			0		0				

## Erklärung der Zeichen:

- +++ bedeutet sehr schöne typische Pusteln,
- ++ gewöhnliche normale Pusteln,
- +
- \*
- 0 Pustelbildung im Charakter einer schwach wirksamen Lympe,
- Pustelbildung im Charakter einer sehr schwach wirksamen Lympe,
- keine Pustelbildung.

## Lympe No. 883 abgenommen am 10. XI. 1904.

am Impf- er No.	Geprüft am	Art des Präparates	Aufbewahrt im Kühlraum (Kontrolle)	Eingestellt im Brutschrank bei 37° C während								
				... Tagen								
				2	4	6	8	10	11	12	16	18
889	23. XI. 04	Glyceriniert	+++	+++	+++	++	+	+				
		Trocken	+++	+++	+++	+++	++	++				
891	30. XI. 04	Glyceriniert	++			0			0		0	
		Trocken	++			++			*		*	
907	1. II. 05	Glyceriniert	+++	++		+	0	0				0
		Trocken	++	++		+	+	+				+
917	24. II. 05	Glyceriniert	+++	+			0			0		0
		Trocken	+++	++			+			0		0
959	31. V. 05	Glyceriniert	+	0			0			0		
		Trocken	+	*			*			*		

## Lympe No. 897 abgenommen am 7. XII. 1904.

				3	6	9	13	21	27	37	
899	30. XII. 04	Glyceriniert	+++	++	++	*					
		Trocken	+++	++	++	++					
901	30. XII. 04	Glyceriniert	+++	+++	++	++					
		Trocken	+++	+++	++	++					
907	1. II. 05	Glyceriniert	+++	+++		++	+		0		
		Trocken	+++	+++		++	++		++		
913	15. II. 05	Glyceriniert	+++	+++	++	++	+	0	0	0	
		Trocken	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++	
915	15. II. 05	Glyceriniert	+++	++	++	+	*	*	0	0	
		Trocken	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++	
917	24. II. 05	Glyceriniert	+++	+++	++	+	+	0	0		
		Trocken	+++	+++	+++	++	++	++	++		
959	31. V. 05	Glyceriniert	+++	++		0	0	0			
		Trocken	+++	+++		++	++	++			
961	2. VI. 05	Glyceriniert	+++		0	0	0				
		Trocken	+++		+	*	*				

## Lympe No. 915 abgenommen am 22. II. 1905.

				1	5	30				
963	14. VI. 05	Trocken	++	++	++	++				
965	14. VI. 05	Trocken	++	++	++	++				

## Lympe No. 964 abgenommen am 19. VI. 1905.

				5	10	15	20	25	30	
973	5. VIII. 05	Glyceriniert	++	*	*	0	0	0	0	
		Trocken	++	++	+	+	+	+	+	
975	5. VIII. 05	Glyceriniert	++	+	*	0	0	0	0	
		Trocken	++	+	+	+	+	*	*	
977	18. VIII. 05	Glyceriniert	+++	+	*	0	0	0	0	
		Trocken	+++	++	++	++	+	*	*	
979	18. VIII. 05	Glyceriniert	+++	+	0	0	0			
		Trocken	+++	++	++	++	+	+	+	

## Lympe No. 975 abgenommen am 11. VIII. 1905.

an Impf- tier No.	Geprüft am	Art des Präparates	Aufbewahrt im Kühlraum (Kontrolle)	Eingestellt im Brutschrank bei 37° C während						
				... Tagen						
				7	14	21	28	35	42	45
993	6. X. 05	Glyceriniert Trocken	+++ +++	++	++	++	++			
995	6. X. 05	Glyceriniert Trocken	+++ +++	++	++	*	*			
999	18. X. 05	Glyceriniert Trocken	+++ +++	++	++	++	++	*	*	
1001	21. X. 05	Glyceriniert Trocken		++	++	++	++	*		*

Die getrockneten Lymphen No. 915, 964, 975 waren in luftleeren Gefäßen eingeschlossen.

Alle von uns in der angegebenen Weise unternommenen Versuche lassen nun erkennen, daß die trockene Lymphe ihre Virulenz bei 37° C besser bewahrt als die glycerinierte und daß erstere noch zu einer Zeit wirksam ist, wo jene bereits ihre Virulenz eingebüßt hat.

Wir fügen hier zum besseren Verständnis ein Photogramm bei, auf dem dieses Verhalten der beiden Präparate klar ersichtlich ist. Es handelte sich um eine Lymphe von ausgezeichneter Virulenz, von der auch das glycerinierte Präparat eine außergewöhnliche Resistenz gegenüber Temperaturen von 37° C gezeigt hatte. In der Tat war die glycerinierte Lymphe noch nach 9-tägiger Einwirkung der Bruttemperatur gut wirksam und hatte nach 13 Tagen ihre Wirksamkeit noch nicht ganz verloren. Die von dem gleichen Impfstoff bereitete trockene Lymphe dagegen zeigte ihre volle Wirksamkeit noch nach 35-tägigem Aufenthalt im Brutschrank.

In gleicher Weise wie die Versuche einer früheren Arbeit<sup>1)</sup>, zeigen auch die vorliegenden Experimente, daß es sehr schwer ist, diesbezüglich ein allgemeines Gesetz, das für sämtliche Lymphen Geltung hat, aufzustellen; auch ist es nicht möglich, die zeitlichen Grenzen genau zu bestimmen, innerhalb deren die Impfstoffe ihre Virulenz behalten resp. verlieren. Der Grund hierfür ist der, daß von verschiedenen Tieren stammende Präparate ein verschiedenes Verhalten zeigen können und daß auch der gleiche Impfstoff bei Uebertragung häufig einen verschiedenen Virulenzgrad aufweist.

Wir haben weiterhin einige Versuche über den Einfluß höherer Temperaturen auf den Impfstoff angestellt. In kleine Glasgefäße wurde trockene resp. glycerinierte Lymphe ungefähr in gleicher Quantität eingefüllt und die Oeffnung der Behälter hierauf abgeschmolzen. Die Präparate kamen sodann in den Heißluftschrank, wo sie einer Temperatur von 59–60° C exportiert waren. Nach 5, 10, 15, 20, 30, 60 Minuten Aufenthalt daselbst wurden die ausgesetzten Proben herausgenommen und am gleichen Tage auf Tiere verimpft.

Auch bei diesen Versuchen erwies es sich, wie nachstehende Tabelle zeigt, daß trockene Lymphe eine größere Resistenz gegenüber der Wärme

1) Carini, Rivista d'Igiene e San. pubbl. 1905.

besitzt als glycerinierte, indem erstere selbst nach 30 und 60 Minuten Aufenthalt bei 60° noch Pustelbildung ergab, während die glycerinierte Lymphe schon nach 15–20 Minuten unwirksam war. Auch dieses Verhalten tritt auf den bezüglichen Photogrammen klar zu Tage.



Photogramm 2. Lymphe No. 993 auf Tier No. 1007 geprüft.

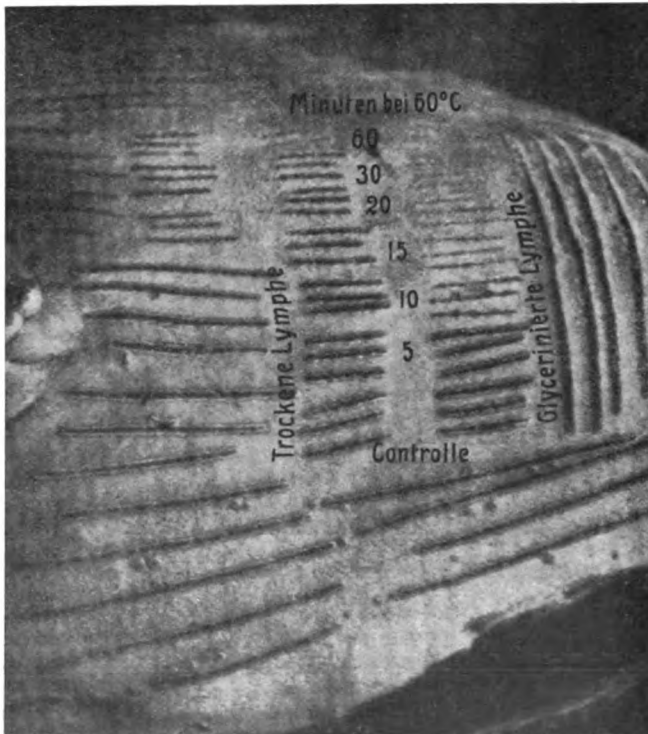
Lymphe No. 993 abgenommen am 11. X. 1905.

an Impf- tier No.	am	Art des Präparates	Aufbewahrt im Kühlraum	Eingestellt im Thermostaten bei ca. 58–60° C während . . . Minuten					
				5	10	15	20	30	60
1007	3. XI. 05	Glyceriniert	++	++	0	0	0	0	
		Trocken	++	++	++	++	++	+	
1009	3. XI. 05	Glyceriniert	+++	+++	+	0	0	0	0
		Trocken	+++	+++	++	++	++	++	+
1013	17. XI. 05	Glyceriniert	++	++	++	++	*	0	
		Trocken	++	++	++	++	++	++	
1015	17. XI. 05	Glyceriniert	+++	+++	+++	++	0	0	
		Trocken	+++	+++	+++	++	++	++	

Unsere Versuche berechtigen uns also zu dem Schlusse, daß die trockene Lymphe durch hohe Temperaturen in ihrer Virulenz weniger stark beeinflußt wird als die glycerinierte.

Wollten wir aber auf Grund dieses Umstandes ohne weiteres die Anwendung der Impfstoffe in trockener Form empfehlen, so könnte man uns mit einem gewissen Recht eines Rückschrittes beschuldigen, da, wie

wir hervorgehoben, die Anwendung der Lymphe in Pulverform wegen ihres hohen Keimgehaltes längs aufgegeben worden war. Zwar ist **man** heutzutage auf Grund einer vervollkommeneten Impftechnik und **wenn** man alle Kautelen befolgt, wohl im stande, den Keimgehalt der Lymphe erheblich einzuschränken. Das kann aber nur innerhalb gewisser Grenzen geschehen, und so wird man in gemäßigten Gegenden den Gebrauch der glycerinierten Lymphe vorziehen.



Photogramm 3. Lymphe No. 993 auf Tier No. 1009 geprüft.

Wir glauben aber, die Herstellung der Lymphe in trockener Form unbedingt dort empfehlen zu können, wo die glycerinierte Lymphe ihre Wirksamkeit infolge von Temperatureinflüssen nicht lange genug bewahrt. Wir sind überzeugt, daß trockene Lymphe, unter Beobachtung aller notwendigen Maßnahmen bereitet, in den tropischen Ländern vortreffliche Dienste leisten wird. Man muß aber bei der Darstellung der trockenen Präparate stets auf peinlichste Asepsis bedacht sein, um eine möglichst keimarme Lymphe zu erhalten. Sollten sich trotzdem bei Anwendung der trockenen Lymphe irgendwelche unangenehme Nebenerscheinungen zeigen, so könnte man noch eine Reinigung des Impfstoffes vornehmen, indem man das Pulver 24—72 Stunden vor Gebrauch mit Glycerin anreibt.

*Nachdruck verboten.*

## Zur Kenntnis des Vaccineerregers.

[Aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin.  
(Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Gaffky. Abteilvorsteher:  
Prof. Dr. Frosch).]

Von Dr. **P. Mühlens** und Dr. phil. **M. Hartmann**  
Marinestabsarzt Privatdozent.

Mit 1 Tafel.

### Einleitung.

In letzter Zeit hat J. Siegel in mehreren Mitteilungen den Nachweis zu führen versucht, daß der Erreger der Pocken ein Protozoon sei. Auch die Aetiologie der Maul- und Klauenseuche, des Scharlachs und der Syphilis wurde im Zusammenhang mit diesen Studien von ihm auf ähnliche Protozoen zurückgeführt. Diese Mitteilungen erregten durch ihre eventuell weittragende Bedeutung und den Ort ihrer Publikation (Sitzungsberichte der Königl. Preuß. Akad. der Wissenschaften) Aufsehen. Der Direktor des Instituts für Infektionskrankheiten in Berlin beauftragte daher im April 1905 den einen von uns — Mühlens — mit der Nachprüfung der Siegelschen Befunde. — Hartmann, der inzwischen als Zoologe in das Institut eingetreten war, hatte sich im Sommer 1904, also vor Erscheinen der neueren Siegelschen Arbeiten, im hygienischen Institut in Gießen in Gemeinschaft mit Privatdozent Dr. Kisskalt mit Untersuchungen über die Natur des Vaccineerregers beschäftigt. Wir waren beide unabhängig voneinander zu ähnlichen bzw. gleichen Resultaten gekommen, die wir, einer Anregung von Herrn Geheimrat Gaffky folgend, nach einer nochmaligen gemeinsamen teilweisen Nachprüfung im folgenden bekannt geben, soweit sie sich auf die Befunde in der Kaninchenhornhaut und im -blute beziehen.

Für das Verständnis und in gewissem Sinne auch für die Beurteilung der Siegelschen Befunde erscheint eine Besprechung seiner Arbeiten seit 1900 in chronologischer Reihenfolge angebracht. Im Anschluß daran soll die übrige Literatur, darunter auch die über ähnliche Befunde bei Scharlach, Masern, Syphilis und anderen Krankheiten Erwähnung finden.

### Literatur.

#### A. Die Siegelschen Arbeiten seit 1900.

Im Jahre 1900 beschrieb Siegel (36) als Befunde bei Vaccinebläschen und möglichst jungen Blasen von Maul- und Klauenseuche nach Beobachtung am frischen Objekt 3 Arten von Organismen als mutmaßliche Erreger dieser Krankheiten: 1) cystenartige, 10—18  $\mu$  große, kugelige oder eiförmige, braunschwänzliche Körper, die er als Dauerformen im Entwicklungsgang des mutmaßlichen Lebewesens anzusehen geneigt war; 2) als Inhalt dieser Cysten 6—8  $\mu$  große, kugelförmige, zum Teil eingedrückte, manchmal gekörnte, hellere Körper und 3) unendlich kleine, kaum mehr als  $\frac{1}{4}$   $\mu$  große, runde, gelbliche, durchscheinende Gebilde, die aus den zuletzt genannten, 6—8  $\mu$  großen Körpern hervorgehen und sich wie ein Bienenschwarm in der Umgebung verteilen sollten. Eine Färbung gelang damals nicht. Auch konnte

Siegel nicht den vermuteten Zusammenhang der 3 Gebilde durch kontinuierliche Beobachtung nachweisen.

1904 erschien in den Sitzungsberichten der Preuß. Akademie der Wissenschaften eine weitere Mitteilung (37). Nach Analogie der Verhältnisse beim Kalb, bei dem bekanntlich das Vaccinevirus zu bestimmten Zeiten im Organismus kreist, und auf Grund der Versuche v. Wasielewskis (51), nach denen Impfungen von Kälbern und Kaninchen mit von vaccinierten Kaninchen genommener Lymphe fast regelmäßig gelangen, nahm Siegel an, daß auch in jedem Organ des infizierten Kaninchens der Krankheitserreger zu finden sein müßte, ohne jedoch für die Allgemeinheit dieser Annahme den Beweis zu führen. Aus den Organen, speziell den Nieren, beschrieb er sodann verschiedenartige Körperchen, die er als zum Entwicklungskreise eines Protozoons gehörend betrachtete und für die Krankheitserreger hielt. Diese Gebilde identifizierte er mit den von Guarnieri zuerst beschriebenen Vaccinekörperchen in der geimpften Kaninchenhornhaut, auf deren Protozoennatur nun aus den analogen Befunden in der Niere rückgeschlossen wurde. Der Parasit erhielt den von Guarnieri aufgestellten Namen: *Cytorhyctes* (Guarnieri schrieb unrichtig *Cytoryctes*; *κύτος* und *ήγρυναι*: Zellzernager).

Nun war aber der Beweis, daß der Pockenerreger wirklich im Kaninchenkörper kreist, noch keineswegs erbracht.

v. Wasielewski erhielt ja seine Impffresultate nur durch Impfungen von der infizierten Kaninchenhornhaut. Auch von anderer Seite war ein Nachweis, daß das Vaccinevirus in einer Weise, wie sie Siegel annimmt, im Kaninchenkörper kreise, soviel uns aus der Literatur bekannt ist, bisher noch nicht geliefert worden.

In der folgenden Arbeit (38, 1905) erwähnt Siegel allerdings, daß es ihm mit durch Chamberland-Filter unter hohem Druck durchgepreßten „Blut und Organsaft eines vor einigen Tagen mit Pocken geimpften Kaninchens“ gelungen sei, in einem Falle bei 3 Versuchstieren auf der Kaninchenhornhaut Guarnieri-Körper zu erzeugen. Dies wäre der einzige aus den sämtlichen Siegelschen Arbeiten zu ersiehende experimentelle Beweis für ein Kreisen des Vaccineerrgers im Kaninchenkörper. Es sei hier schon erwähnt, daß in der Literatur nach Siegels Arbeit nur noch ein Fall von gelungener Impfung mit Nierensaft eines korneal infizierten Kaninchens (v. Wasielewski, 52) berichtet wird. Wir werden später bei Besprechung unserer eigenen Resultate noch genauer auf diese Frage eingehen.

Die Erreger selbst schilderte Siegel zunächst (37, 1904) lebend nach Beobachtung aus Nierensaft als kleinste, mit einer lebhaft beweglichen Spitze ausgestattete, ein- oder zweikernige Organismen von 1—1,5  $\mu$  Länge und einigen Zehntel Mikron Breite, die sich durch Längsteilung vermehren sollen, so daß schließlich 4 Kerne zu sehen seien. Außerdem beschreibt er aus Ausstrichpräparaten als eine zweite Form ovoide Körperchen, die in großen Cysten gebildet werden (Sporoblasten), die „mit Dauersporen die größte Ähnlichkeit haben“. Dieselben bringt Siegel mit den *Cytorhyctes*-Körpern in der Cornea in Zusammenhang, die er auch für Dauersporen hält. In der weiteren Arbeit (38, 1905) schildert er sodann die Körperchen noch genauer. Während der Autor in der vorigen Arbeit eine Vorwärtsbewegung der „beweglichen Körperchen“ in der Richtung des beweglichen Teiles (daher Vorderstück bezeichnet) aussprechen zu können glaubte, beschrieb er in dieser eine

lokomotorische Bewegung auf einer schleifenförmig verschlungenen Bahn. Als weitere Formen werden erwähnt: Hantelformen, sodann größere kugel-, ei- und birnförmige Gebilde, sowie Tetraden. Alle diese Formen sollen keine Eigenbewegung besitzen, während noch in der vorigen Arbeit die Hantelform als langsam rollende Bewegungen ausführend geschildert wurde. Die größeren Formen werden jetzt als  $1-2,5 \mu$  (selten  $3-5 \mu$ ) groß angegeben. Von den in der ersten Arbeit (36, 1900) geschilderten  $6-8 \mu$  und  $10-18 \mu$  großen Körpern ist in dieser und in späteren Arbeiten nicht mehr die Rede. — In gefärbten Präparaten (Fbg. siehe Originalarbeit: 38) schildert Siegel fortgesetzte Kernteilungsbilder und legt auf diese besonders großen Wert als Beweise für die Protozoennatur der Gebilde. In Schnitten der inneren Organe, z. B. Niere, fand er es oft schwer, infizierte Zellen zu finden, da nur ein geringer Teil der Zellen mit den Parasiten behaftet sei. Doch sollen sich, wie er schon früher angab, die Nierenzellen „stellenweise zahlreich infiziert finden“ (siehe Fig. 11 in der betreffenden Arbeit: 37) mit Körperchen, die er mit den Guarnierischen identifiziert. Zum Schluß konstruiert Siegel auch einen Entwicklungsgang „mit großer Reserve“. Die kleinen beweglichen Körper seien Jugendformen, die sich durch Längsspaltung vermehren sollen. Außerdem kämen Mehrfachteilungen des Kernes vor und endlich die Dauerformen, die bei der Weiterentwicklung in je 2 Sporozoiten zerfielen. Siegel hält damit die Parasitennatur der Guarnierischen Körperchen für erwiesen. Er ist geneigt, denselben eine Mittelstellung zwischen Flagellaten und Sporozoen anzuweisen. — Ueber Kontrollen ist in den bisherigen Arbeiten nichts erwähnt. Man vermißt insbesondere eine Unterscheidung der Körperchen von Zerfallsprodukten von Körperzellen und roten Blutkörperchen. Dies wurde nach und nach in späteren Arbeiten nachgeholt.

Als Erreger der Maul- und Klauenseuche (38) und bald darauf auch des Scharlachs (39 und 40) und der Syphilis (41 und 42) wurden ähnliche Körper beschrieben, für die keine durchgreifenden morphologische Unterschiede gefunden wurden. Dagegen gab Siegel Unterschiede in der Art der Lokalisation derselben und zum Teil auch der Bildung der Dauersporen an. Aus diesen Arbeiten ist zu den vorhergehenden ergänzend noch folgendes hier anzuführen:

In mit Scharlachschuppenemulsion (40) geimpften Kaninchen fand Siegel Parasiten, die er *Cytorhyses scarlatinae* nannte. In dieser Arbeit erwähnt er auch, daß er selbstverständlich sehr oft Blut gesunder Menschen und Kaninchen mit denselben Methoden untersucht habe, wobei niemals ähnliche Gebilde gefunden worden seien. Außer durch sein Lichtbrechungsvermögen sei der *Cytorhyses* durch typische Bewegungserscheinungen von allen Bestandteilen des normalen Blutes und Organsaftes verschieden.

In der folgenden Arbeit über die Aetiologie der Syphilis (42) schildert Siegel bei der Beschreibung der Vermehrung der Parasiten durch Kernteilung bei den 4-8-kernigen Formen „einen mehr oder minder langen geißelförmigen Fortsatz“, der bei den weiteren Kernteilungsbildern nicht mehr vorhanden sei.

In der späteren Veröffentlichung (43) folgt noch eine Ergänzung hierzu: Die Vermehrung wird bis zur Teilung in kleine, frei



werdende, bewegliche Gebilde geschildert. Ob Siegel die Uebergänge von einer in die andere Form durch kontinuierliche Beobachtung festgestellt hat, oder nur, wie schon früher, durch Kombination der verschiedenen beobachteten Gebilde den geschilderten Entwicklungsgang konstruiert hat, ist aus der Arbeit nicht zu ersehen. Die letztere Annahme scheint uns wahrscheinlicher.

F. E. Schulze (34) schilderte bald darauf die Form und auch die Bewegungen des *Cytorhyctes luis* genauer, die er für typische Flagellatenbewegung erklärte. Dieselbe wird später noch von uns eingehend beschrieben. In seiner Arbeit wird erwähnt, daß deutliche lange Geißeln beobachtet worden sind, deren Färbung auch gelungen sei.

In der Veröffentlichung „Neue Untersuchungen über die Aetiologie der Syphilis“ (44) geht Siegel auf auch in gesundem Blut beim Zerfall der roten Blutkörperchen vorkommende bewegliche Scheibchen und Fädchen sowie andere Zerfallsprodukte näher ein, die sich nach Aussehen, Bewegungsart und Färbbarkeit vom *Cytorhyctes* unterscheiden sollen. Auch wird hier eingehender die Geißelbeobachtung und -färbung beschrieben, wobei gleich bemerkt wird, daß das vollkommene Gelingen derselben selten sei; meist erhalte man nur die Geißelwurzel.

In einer weiteren Arbeit (45) macht Siegel sodann auf normale Blutbestandteile, die Hämokonien (H. F. Müller) aufmerksam, die typischen flagellatenähnlichen Bewegungsmodus zeigten. Diese seien aber von dem *Cytorhyctes* durch ihre Größe (nur  $\frac{1}{8}$ — $\frac{2}{3}$   $\mu$ ), durch das Fehlen von Kernen und die Unmöglichkeit der Färbbarkeit verschieden.

In einem kurzen Vortrag über den *Cytorhyctes variolae (vaccinae)* in der Gesellschaft naturforschender Freunde in Berlin (46) 1905 bezeichnete Siegel die Erreger wegen ihrer Geißeln (1—3) als Flagellaten; die Vermehrung soll durch eine Art Schizogonie geschehen, außerdem — wenigstens bei Pocken — noch durch Längsteilung. Der Höhepunkt der Infektion des peripheren Blutes mit Parasiten sei am 5. Tage, während früher der 3. Tag angegeben war. Siegel stellt nun gewisse Bedingungen für den diagnostischen Wert der Körperchen in gefärbten Präparaten auf: Die Kernfärbung lasse sich zur Diagnose nur dann verwerten, wenn „größere Mengen“ der Parasiten im ausgestrichenen Gewebe liegen (wie viele?), und zwar „möglichst der vielkernigen Formen“. Bei vereinzelt kleineren Formen seien Verwechslungen mit Zufallsgebilden des ausgestrichenen und eventuell gequetschten Gewebes möglich. In diesen Fällen solle man nur eine Diagnose stellen, wenn man gleichzeitig lebendes Blut untersuchen könne.

In den bisher angeführten Arbeiten ist eine der von Robert Koch aufgestellten Hauptbedingungen für die ätiologische Anerkennung eines Parasiten noch nicht erfüllt: Es fehlt jeglicher Beweis einer spezifischen Beziehung zwischen den genannten Krankheiten und den als deren Erreger hingestellten Parasiten. Es ist nicht einmal nachgewiesen, daß diese Formen nicht auch noch bei anderen Krankheiten vorkommen könnten, was um so notwendiger gewesen wäre, als Siegel seine angeblichen Parasiten nicht nur bei einer, sondern bei fast allen Krankheiten, deren Erreger wir bisher nicht kannten, gefunden hatte.

Erst im Januar 1906 in der letzten Arbeit (47), die speziell den

Syphiliserreger betrifft, werden auch eingehendere Kontrolluntersuchungen angeführt. Siegel fand den *Cytorhyctes* nicht bei Typhus, schwerer Septikämie, in Leichenblut bei beginnender Zersetzung und endlich in Mäuseblut nach Einspritzung von Toluylendiamin. Nochmaliger Hinweis auf Unterschiede des *Cytorhyctes* gegenüber Hämonien und Zerfallsprodukten im Blut. Siegel betont dann nochmals die Notwendigkeit des Nachweises einer größeren Menge der größeren Formen für die Diagnose in gefärbten Präparaten. Finde man diese nicht, so müsse man, um nicht eventuell eine falsche Diagnose zu stellen, auf ein Gutachten verzichten. Er dringe in letzter Zeit zur Sicherheit der Diagnose auf dreifachen Nachweis der Parasiten: im Ausstrich, im Schnitt und im lebenden Blut. Wenn man kein frisches Blut habe, dann sei durch Impfung von Kaninchen oder weißen Mäusen eine Anreicherung der Parasiten im Tierkörper herbeizuführen (auch bei Vaccine möglich).

Die vorstehend etwas ausführlich gegebenen Auszüge aus den Siegelschen Publikationen lassen den Gang seiner Untersuchungen verfolgen. Dieselben kann man in mancher Hinsicht nicht als einwandsfrei gelten lassen. Es wurde bereits erwähnt, daß Siegel von vornherein (37) ein Kreisen des Pockenvirus im Kaninchenkörper als sicher angenommen hatte, ehe dies experimentell bewiesen war. Daß der alsdann (38) angeführte experimentelle Beweis unserer Ansicht nach als nicht genügend angesehen werden muß, werden wir noch später erörtern. Von dieser Annahme aber gingen die Siegelschen Untersuchungen aus.

In den ersten Arbeiten wurden bereits *Cytorhyctes*-Formen als Erreger bestimmter Krankheiten angesprochen, ohne daß Kontrolluntersuchungen erwähnt wurden. Die Spezifität des Erregers wurde erst in der letzten Arbeit (47, 1906) durch Anführen von Kontrolluntersuchungen bei Kranken zu beweisen versucht; diese können aber unserer Ansicht nach noch nicht als hinreichend gelten. Ihre Zahl ist zu gering. Eine strenge Kritik der Siegelschen Befunde ist um so unabweislicher, als der sicherste, aber auch wohl schwierigste Beweis — speziell für die Vaccine — nämlich die Züchtung des Erregers und die Erzeugung der Krankheit mit der gezüchteten Reinkultur noch fehlt. Es sei hier jedoch erwähnt, daß Siegel in seiner letzten Arbeit (47) anführt, daß anscheinend Züchtungen des *Cytorhyctes luis* gelungen seien mit Uebertragungen auf Nabelschnurbouillon alle 14 Tage, und zwar 4mal. Nach Einspritzung der letzten Kultur, in der ebenso wie in den anderen der *Cytorhyctes* vorhanden war, sei bei einem Affen Syphilis erzeugt worden. — Es muß darauf hingewiesen werden, daß eine Autorität wie Neisser (30) angibt, daß die klinischen Erscheinungen an den syphilitischen Affen Siegels vollkommen von allem abwichen, was alle anderen Beobachter und er an vielen Hundert mit Syphilis geimpften Tieren gesehen hätten. Auf denselben Punkt macht fast gleichzeitig Roscher<sup>1)</sup> aufmerksam. Er hält nicht den geringsten Beweis für erbracht, daß die experimentell bei den Tieren von Siegel erzeugte Krankheit Syphilis ist. Zusatz bei der Korrektur: Wechselmann (Dtsche med. Wochenschr. 1906. No. 6) teilt mit, daß er durch Injektion von 3 ccm normalem Kaninchenblut bei einem *Macacus* Erscheinungen hervorgerufen habe, „welche den von Siegel als Affen-

1) Roscher, *Spirochaete pallida* und Syphilis. (Med. Klinik. 1906. No. 2.)

syphilis beschriebenen identisch oder mindestens sehr ähnlich sind“. Wechselmann hatte die von Siegel infizierten Tiere selbst gesehen.

Es sei hier ferner erwähnt, daß Bonhoff (5) im Jahre 1903 veröffentlichte, daß er geglaubt habe, den Vaccineerreger — für den er den Siegelschen Körperchen ähnliche oder gleiche hielt — auf einem besonderen Nährboden zur Vermehrung gebracht zu haben. Dieser bestand aus nicht über Körpertemperatur erwärmten, steril hergestellten Alkaliextrakten der lebenswichtigsten Organe verschiedener Tiere. Es gelang Bonhoff 1mal, nach der 7. Uebertragung mit der Kultur noch die Krankheit zu erzeugen. Bald jedoch gab er seine Ansicht wieder auf, da er fand, daß auch der unbeimpfte Nährboden bei längerem oder kürzerem Aufenthalt im Brutschrank „Körnchen verdächtiger Beschaffenheit und verschiedener Größe erzeugte, die auch ein starkes Lichtbrechungsvermögen besitzen. Mir ist damit auch die Anschauung, daß die in der Vaccinepustel vorkommenden Körner die Erreger der Kuhpocken sind, hinfällig geworden. Ich halte die Körner für Produkte der Einschmelzung von Zellen.“

Aus den Siegelschen Arbeiten sieht man endlich noch, daß der Verfasser seine Ansichten über die Natur seiner Körperchen im Laufe der Zeit teilweise geändert bzw. modifiziert hat: Die Sporulationscysten seiner ersten Arbeit werden später nicht mehr erwähnt, die kleinen Formen haben anfangs 1—2, später stets 2 Kerne, die Hantelformen bewegen sich erst rollend, später gar nicht und schließlich werden sie auch nicht mehr erwähnt. Die Bedeutung der Körperchen für die Diagnose ist im Laufe der Untersuchungen eingeschränkt worden, indem Siegel zuletzt nur noch bestimmte Formen als sicher beweisend gelten läßt.

Die den ersten Veröffentlichungen beigegebenen Photogramme sind zum großen Teil so undeutlich, daß wir uns danach keine klare Vorstellung von dem machen können, was die Bilder wiedergeben sollen. Was sie zum Ausdruck bringen sollten, wird in anderen Arbeiten durch schematische Zeichnungen gezeigt.

## B. Literatur über ähnliche oder gleiche Befunde.

### 1) Vor Erscheinen der neueren Siegelschen Arbeiten.

Den Siegelschen Befunden ähnliche Angaben finden sich in mehr oder minder ausführlicher Darstellung auch schon in der älteren Literatur, worauf Siegel auch in seinen Arbeiten hinweist; bei vielen dieser Befunde ist es allerdings schwierig, nach der Beschreibung zu entscheiden, ob die beschriebenen Gebilde mit den Siegelschen Körperchen identisch sind oder nicht. Bezüglich der Angaben von Bohn, Klebs, van der Loeff, L. Pfeiffer, Funck, Ishigami, Bonhoff, Bosc und anderer verweisen wir auf die Angaben aus diesen Arbeiten in den Veröffentlichungen von Siegel, Süpfle (49) und v. Prowazek (32). Die beiden letzteren bringen auch das diesbezügliche ausführliche Literaturverzeichnis, das wir deshalb nicht wiederholen.

Erwähnen wollen wir nur noch, da Siegel seine Parasiten mit den daselbst beschriebenen Gebilden zum Teil identifiziert, folgende Veröffentlichungen:

Im Jahre 1892 beschrieb Doehle (10) für Masern, Pocken, Scharlach und Syphilis als mutmaßliche Erreger kleine, mit einer Geißel be-

warfnete, lebhaft bewegliche Körper von  $\frac{1}{4}$ — $2\frac{1}{2}$   $\mu$  Größe als parasitäre Protozoen.

Losdorffer (26) beschrieb 1900 in der k. k. Gesellschaft der Aerzte in Wien bei Syphilis beobachtete: 1) kleine mattglänzende Körperchen, anfangs ruhig, dann nach einem Ruck rollende und tanzende Bewegungen ausführend. Oft sah er Vereinigungen zu Gruppen von 2, 3, 4 und mehr Körnchen (bis 100 nach 24 Stunden); 2) daneben häufig größere Körperchen, vereinigt zu lappenförmigen Gebilden. Die Färbung gelang nicht. Im Blut von Gesunden und Nichtsyphilitikern seien nie dieselben Gebilde oder ähnliche gefunden. Jedoch sah L., daß Hämokonien sich auch aneinanderlegen können, doch so, daß die einzelnen Glieder zusammenzufließen scheinen.“ Er äußerte sich nicht über die ätiologische Bedeutung. In der darauf folgenden Diskussion hielt Palt auf die Bewegung für Molekularbewegung, die Körperchen für Zerfalls- oder Gerinnungsprodukte, vielleicht mit Veränderung der Bluthbeschaffenheit in Zusammenhang stehend. — Kaposi war auch geneigt, Derivate von Blutelementen anzunehmen.

Stassano (48) beschrieb 1901 als Syphilisparasiten geißeltragende, flagellatenartige Gebilde von verschiedener Form und Größe, deren Abbildungen auch Siegel (47) wiedergibt. Einen Teil derselben identifiziert Siegel mit seinen Parasiten, während er die übrigen gleich vielen der von Losdorffer beschriebenen Gebilde für Zerfallsprodukte hält.

Calmette und Guérin schreiben 1901 (8): *A l'état frais, on y observe en revanche une multitude de grains extrêmement petits, réfringents, mobiles, qui semblent bien être les éléments virulents du vaccin.*

Ähnliche Gebilde beschreibt 1902 Dombrowski (12). Siegel identifizierte dieselben mit seinen beweglichen Körperchen.

Erwähnt seien auch noch die Befunde von Magrath und Brinkerhoff 1904 (27), die sehr eingehende Pockenstudien machten. Sie sahen auch vielgestaltige bewegliche Gebilde im Blut von Variolakranken, aber auch bei gesunden Menschen und Affen, besonders zahlreich in einem Fall von maligner Endocarditis. Bei eingehender Untersuchung aber fanden sie keine für Pocken charakteristischen Gebilde im Blut, weshalb sie zu der Ueberzeugung kamen: wenn unter den im Blut gefundenen körperlichen Gebilden Parasiten seien, so fehlten uns zur Zeit die technischen Hilfsmittel, um sie mikroskopisch von den Zerfallsprodukten der normalen Blutbestandteile zu unterscheiden.

2) Nach Erscheinen der Siegelschen Arbeiten.

Mitte Juli 1905 (44) schrieb Siegel in einer Syphilisarbeitsarbeit: „Wenn der Verfasser nicht erwartet, daß bestätigende Nachuntersuchungen in kürzerer Zeit veröffentlicht werden, so liegt das daran, daß die Schwierigkeiten der Sichtbarmachung, wie er aus eigener Erfahrung weiß, außergewöhnlich groß sind und nur bei langer andauernder und immer wiederholter Uebung überwunden werden können.“ Bald darauf erschienen jedoch schon zwei Arbeiten, die von Siegel als Bestätigungen in seiner letzten Arbeit (47) erwähnt wurden, trotzdem sie den von ihm in derselben Arbeit aufgestellten Bedingungen für eine positive Diagnose keineswegs genügen. Keiner der Verfasser erwähnt, daß er größere Mengen von größeren Formen gesehen habe.

Merk-Innsbruck (28) schildert äußerst fesselnd seine Beobachtungen

an 5 lebenden Präparaten. Er beschreibt die lebhaft beweglichen „Tiere“, die er meist spärlich fand. Als Größe gibt er 2mal etwa  $3,5 \mu$ , 1mal  $1,5 \mu$  an. Er kommt aus diesen und aus anderen Beobachtungen zu dem Schluß: „Der *Cytoryktes Luis* (Siegel) tritt im Menschenblut einige Zeit nach dem Erscheinen der Sklerose auf. Er hält sich lange Jahre im Plasma und weicht den Injektionen sehr schwer, schneller den Inunktionen. In schweren Fällen tritt er auch in die roten Blutscheiben ein, und ich habe Gründe anzunehmen, daß er nicht zu allen Tages- und Nachtstunden im selben Individuum in gleicher Häufigkeit zu finden ist“; und weiter: „Jede Beurteilung einer antiluetischen Kur ist ohne Kontrolle nativer Blutpräparate ein Anachronismus geworden.“

Bald darauf erschien eine Arbeit „über *Cytorryctes luis* Siegel“ von Freund-Danzig (14). In 10 Fällen, von denen der Verfasser 7 für sichere Lues, 3 für fraglich hielt (letztere jedoch klinisch wahrscheinlich Syphilis), fand er *Cytorh. luis*, meist in „enormen Mengen, 2—6 in jedem Gesichtsfeld“. Freund berechnet auf 1 Liter Blut 60 000 000 Parasiten, wodurch die ungeheure Infektiosität der Krankheit erklärt sei. Eigenbewegung wird beschrieben. Färbung gelang erst nach langen vergeblichen Versuchen nach der für die Färbung der *Spirochaeta pallida* angegebenen Methode (Schaudinn). Dieselben Bilder wie Siegel. Nachweis nach Ueberimpfung vom frischen Blut auf Kaninchen; nach 8 Tagen einzelne, nach 20 Tagen viele Parasiten — Freund erwähnt keine Schnittuntersuchungen. — Nach seiner Beobachtung nahmen die Körperchen bei Schmierkur ab. — Bei 5 Untersuchungen von gesundem Blut, auch bei fieberhaftem Magenkatarrh, Mycosis fungoides und Tuberkulose wurden keine derartigen Gebilde gefunden. Freund gibt zu, daß seine Fälle wegen geringer Zahl und Schwierigkeit der Untersuchung noch keine Beweiskraft haben. — Wir möchten noch bemerken, daß unter den „7 sicheren“ Fällen nur 1 Fall mit frischer Sklerose war. In 2 Fällen lag die Infektion 2 Jahre zurück. Beide hatten Kuren durchgemacht; einer war ohne Syphiliszeichen, der andere hatte außer Abmagerung nur subjektive Beschwerden, keinen objektiven Befund, trotzdem 3—5 Parasiten in jedem Gesichtsfeld! — Auch ein weiterer Patient hatte keinen objektiven Befund bei Untersuchung, nur subjektive Allgemeinbeschwerden: 2—5 Körperchen im Gesichtsfeld. — In einem weiteren Fall lag die Infektion 7 Jahre zurück: vor 5 Monaten Gumma der Clavicula, jetzt Schwindel und Kopfschmerz. Viele Parasiten. — Eine Frau ohne Primäraffekt (Gatte war syphilitisch) zeigte im beim Abort entleerten Blut *Cytorhyctes*. Später bei ihr Drüenschwellungen beobachtet. — Beim 7. Fall endlich lag die fragliche Infektion 30 Jahre zurück. Jetzt keine Zeichen von Syphilis. Nur allgemeine Klagen. Viele Parasiten! Unter diesen 7 Fällen ist unserer Ansicht nach nur einer, bei dem eine manifeste Syphilis zur Zeit der Untersuchung bestand. Daß bei ganz alter Syphilis ohne manifeste Erscheinungen in so großer Menge Parasiten im Blute kreisen sollen, erscheint doch mehr wie fraglich und widerspricht allen bisherigen Erfahrungen über Protozoen.

Im November 1905 wurde von cand. med. Jancke eine bei Siegel gemachte Arbeit veröffentlicht (21). Er hatte syphilitische Placenten untersucht. Auch er gibt Färbung als schwer an. Als charakteristisch habe er nur 4- und mehrkernige Formen angesehen. In 10 Fällen — (darunter 6mal lebend und 5mal im ge-

färbten Ausstrich nicht untersucht) — fand er den *Cytorhynchus luis* in allen Präparaten. während in 6 gesunden Placenten — (3mal lebend und 3mal im Ausstrich nicht untersucht, nur 1mal alle 3 Untersuchungen) — keine Parasiten waren. — Bei diesen Untersuchungen ist der von Siegel geforderte dreifache Nachweis der Parasiten nur 3mal erbracht, obwohl er bei diesem Material leicht hätte ausgeführt werden können. Oft wird sonst ja der Nachweis der Parasiten in Schnitten nur nach Impfung von Tieren möglich sein.

Im Jahre 1905 veröffentlichte Doehle (11) unter Hinweis auf seine frühere Arbeit Beobachtungen von frischen Blutbefunden bei Syphilis, Masern und Pocken. Er beschreibt aus dem Syphilisblut: 1) kleine bewegliche Körner von verschiedener Größe mit 1—3 kaum sichtbaren Fortsätzen; 2) kleine bewegliche, länglich-ovale Gebilde mit deutlicher Geißel; oft hängen 2 solcher Gebilde zusammen; 3) am charakteristischsten größere Gebilden mit geschwungener Geißel, die nach allen Richtungen schwimmen, wobei die Geißel schwingende und schlängelnde Bewegungen ausführt; 4) seltener ähnliche, etwas plumpere Gebilde mit 2 sich selbständig bewegenden Körnern im Kopfteil; 5) kleine geschlängelte, bewegliche Protoplasmafädchen, die er für identisch mit *Spirochaeta pallida* ansieht. — Doehle hält diese Gebilde für dem Blut fremde Organismen, die zusammengehörig seien, entweder als Teile oder Entwicklungsstadien. — Ähnliche Befunde (auch spirillenähnliche Gebilde) sah er bei Masern. — Bei 2 Pockenkranken fand er von den größeren (zum Teil den Siegelschen ähnlichen) Gebilden nur wenige. Am häufigsten fand er kugelige, manchmal etwas ovale Gebilde mit langer Geißel, diesmal ohne glänzende Körner.

Es sind nun noch einige Arbeiten anzuführen, die sich gegen die Parasitennatur des Siegelschen Flagellaten aussprechen. Süpfle hält die Bewegung desselben (bei Vaccine untersucht) für Molekularbewegung, die Parasitennatur nicht für bewiesen und ist geneigt, die Gebilde für Degenerationsprodukte von Gewebszellen des erkrankten Organismus anzusehen. — v. Wasielewski (52), der seine Untersuchungen auch bei Vaccine machte, sieht ebenfalls die Protozoennatur als nicht bewiesen an und weist darauf hin, daß gerade bei Untersuchungen von lebenden Gewebelementen in destilliertem Wasser, wie sie Siegel angibt, häufig Zerfallsprodukte von Zellen und roten Blutkörperchen auftreten, von denen Siegel seine Körperchen nicht zu unterscheiden versucht habe. (Dies geschah ja erst nach dem Erscheinen der W.schen Arbeit.) — Neisser (30) schreibt bezüglich des *Cytorhynchus* bei Syphilis: „Was die von Siegel gemachten Befunde anbetrifft, so will ich auf die mikroskopischen Untersuchungen, die wir angestellt haben, keinen besonderen Wert legen. Ich will gern zugeben, daß wir nicht genügend auf diesem Spezialgebiete vorgebildet waren, um uns ein Urteil über diese schwer erkennbaren und zu charakterisierenden Parasiten zuzutrauen. (Wir glauben z. B. in ganz normalem Blut dieselben Gebilde gesehen zu haben wie im Syphilisblut).“ — v. Prowazek endlich (32), den Siegel auf Grund seiner Abbildungen als Bestätiger anführt, hält die Bewegung der Siegelschen Körperchen in Glycerinlymphe von Vaccine für Molekularbewegung: „wackelnd, schwankend, manchmal überstürzend“. Er glaubt die Körperchen ihrem ganzen Verhalten und Aussehen nach für nichtlebende Bestandteile der Lymphe ansprechen zu müssen. Nach seinen Versuchen kreist der

Pockenerreger weder nach intraperitonealer noch nach kornealer Infektion im Kaninchenkörper. v. Prowazek schildert sodann noch die von ihm gefundenen sogenannten „Initialkörper“, die eine gewisse Ähnlichkeit (in der Abbildung) mit gewissen Formen der Siegelischen Körperchen haben. Sie treten aber nach Impfung der Cornea im Plasma der Epithelzelle, wahrscheinlich auch im Kern und mitunter später auch in Guarnierischen Körperchen auf. Wir werden später auf diese Körper noch eingehen. Die Parasitennatur der Guarnierischen Körperchen lehnt der Autor ab.

Es stehen sich somit zwei Ansichten einander gegenüber: Nach der einen sind die von Siegel beschriebenen „beweglichen Körperchen“ parasitäre Protozoen, nach der anderen sind sie normale Blutbestandteile oder Zerfallsprodukte.

## Material und Untersuchungsmethoden.

### I. Hornhautuntersuchungen.

Unsere sämtlichen Impfungen wurden vorgenommen mit aus dem Kgl. Lymphinstitut in Berlin bezogener Lymphe, die Herr Geheimrat Schulz dem Institut jederzeit bereitwillig überließ, wofür ihm und Herrn Medizinalrat Stüler, ebenso wie für die Erlaubnis der Entnahme von frischer Kalbs- und humaner Lymphe, auch an dieser Stelle unser bester Dank ausgesprochen sei. Die Lymphe wurde teils unverdünnt, teils mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt benutzt. Sie lieferte auch bei starker Verdünnung stets ein positives Impffresultat auf der Kaninchenhornhaut. Von vornherein sei erwähnt, daß, um Verwechselungen der Guarnierischen Körperchen mit ähnlichen Gebilden, wie sie namentlich bei Impfungen mit Blut oder Organsäften möglich sind, zu vermeiden, für einen positiven Ausfall der Hornhautimpfung Forderungen aufgestellt wurden, wie sie auch v. Wasielewski macht: 1) Nachweis der G. K. in der Mehrzahl der den Stichkanal begrenzenden Epithelzellen; 2) Nachweis der vorwiegenden Lagerung am Zellkern (Einbuchtungen desselben); 3) Nachweis der verschiedenen typischen Formen in verschiedener Größe, wobei die größten vorwiegend in der Nähe des Stichkanals liegen.

Zur Ausführung der Impfungen erwies sich sehr brauchbar eine gut geschliffene Kanüle einer Pravazspritze, in die sich das Material leicht ansaugt, das dann bei dem tangentialen Hornhautstich in die Epitheltasche einläuft. — Die Fixierung (bulbus in toto) geschah nach den gebräuchlichen Methoden. Am besten bewährte sich eine Mischung von gesättigter Sublimatkochsalzlösung und absolutem Alkohol, entweder  $\frac{2}{3}$  oder  $\frac{1}{3}$ , wobei nach gründlichem (20–24-stündigem) Auswaschen in 50-proz. Jodalkohol selten Sublimatniederschläge beobachtet wurden. Paraffineinbettung. Aufkleben der 4–8  $\mu$  dicken Schnitte mit warmem, destilliertem Wasser.

Gefärbt wurde meist mit: 1) Heidenhains Eisenhämatoxylin, wobei kurze Nachfärbung mit dünner Eosinlösung oft das Bild noch verschärfte. Diese Methode gab stets gute Resultate. 2) Biondi-Mischung; wurde wegen Ungleichmäßigkeit der Resultate bald aufgegeben. 3) Giemsa-Mischung; diese gibt in dünnen Schnitten oft schöne Bilder, namentlich wenn man in dünner Eosinlösung differenziert. Auch Azur II-Lösung 1:1000 bringt die Körperchen zur Darstellung. Diese beiden Färbungen geben meist schon nach 1 Stunde Bilder, die für rein diagnostische Zwecke genügen. Vorsichtig ist dabei

mit der Alkoholanwendung zu verfahren. Es empfiehlt sich, nach Abnahme des Wassers mit Fließpapier den Schnitt nur ganz kurz in absoluten Alkohol zu tauchen. Weniger konzentrierter Alkohol schadet der Färbung schnell; nach kurzer Xylolbehandlung Einbetten in Cedernöl. Kanadabalsam, der selten ganz säurefrei ist, entfärbt häufig mehr oder minder im Laufe der Zeit. 4) Die Mannsche Färbung, die bei den Negrischen Wutkörperchen so gute Resultate gibt, gab bei einigen Versuchen kein klares Bild der Guarnierischen Körper.

## II. Untersuchungen von frischem Organsaft und Blut.

Siegel (38) gibt an, daß man, um störende Gerinnungserscheinungen zu vermeiden, mit einem Tropfen abgekochten destillierten Wassers das Material (Nierensaft, Blut) mischen solle. Dabei beobachtete er die Parasiten tagelang. In einer späteren Arbeit (40) sagt er, daß die Beweglichkeit bei Zusatz von destilliertem Wasser noch größer würde. F. E. Schulze (34) verdünnte den Tropfen Nierensaft mit „Wasser“. Wir konnten uns zur dauernden Untersuchung in destilliertem Wasser nicht entschließen, da dies ja bekanntlich ein Zellgift darstellt. Nach einigen Versuchen, bei denen sofort der schnelle Zerfall, namentlich der roten Blutkörperchen, zu Tage trat, stellten wir die weiteren Beobachtungen meist an unverdünntem oder mit physiologischer Kochsalzlösung verdünntem Organsaft und Blut an, nachdem wir uns überzeugt hatten, daß dabei dieselben Körperchen zu beobachten waren. Um Quetschungen und dadurch Entstehen von Kunstprodukten möglichst zu vermeiden, untersuchten wir meist im hängenden Tropfen.

Bei Vitalfärbungen wurden hauptsächlich Azur und Neutralrot angewandt.

Die Ausstriche wurden mit absolutem Alkohol fixiert und gleich darauf gefärbt nach den von Siegel angegebenen Methoden mit: Hämatoxylin-Azur oder 3maliger Färbung (je 24 Stunden) mit alter Giemsa-Methode zur Geißeldarstellung und endlich in letzter Zeit auch mit alter Boraxmethylenblaulösung. Alle Untersuchungen fanden ähnlich wie die Siegelschen statt bei Auer-Gasglühlicht nebst Schusterkugel, mit Zeisschem Apochromaten 2 mm und Kompensationsokularen 6, 8, 12 und 18 zum Zweck starker Vergrößerungen.

Von Photogrammen, „die für so subtile Objekte (wie Siegel selbst sagt), bei so starker Vergrößerung sehr schwer darzustellen sind“ und dann „oft nur eine Andeutung dessen geben, was im Mikroskop viel klarer gesehen wird“, sahen wir ab, nachdem selbst Prof. Zettnow scharfe Bilder von den kleinen Körperchen zu machen für unmöglich gefunden hatte. Wir haben daher in Zeichnungen, hergestellt mit dem großen Abbeschen Zeichenapparat in Objekttischhöhe (Okular 18, etwa 2250-fache Vergrößerung) eine Anzahl der gefundenen Gebilde dargestellt. Die Farbe ist der der Präparate entsprechend mit denselben Farblösungen hergestellt.

Wir wollen nicht unterlassen, darauf hinzuweisen, daß Herr Siegel wiederholt die Liebenswürdigkeit hatte, uns beiden die *Cytorhyctes*-Formen und auch die Färbemethoden zu demonstrieren, wofür ihm auch an dieser Stelle unser Dank ausgesprochen sei. Er zeigte uns die Körperchen wiederholt in frischen und auch in gefärbten Präparaten, sowohl in solchen, die er selbst gemacht hatte, als auch in anderen, die der eine von uns von einem im Institut für Infektionskrankheiten infizierten



Kaninchen entnommen und gefärbt hatte. Wir waren somit sicher, seine Körperchen zu kennen.

### Experimentelle Untersuchungen.

Um das Vorhandensein des Vaccineerregers nach kornealer Infektion im Kaninchenkörper experimentell festzustellen, wurde je 4mal am 5. Tage nach der Infektion mit Organsaft der infizierten Tiere auf Kaninchenhornhaut geimpft; je ein Auge mit 3 Stichen Organsaft, und zwar entweder von: Niere, Leber, Milz, Knochenmark oder retroperitonealen Lymphdrüsen (2mal auch vom Gehirn). Zur Kontrolle wurde von der geimpften Hornhaut ebenfalls weitergeimpft. Letztere, sowie die ursprünglichen Hornhautimpfungen ergaben stets das Vorhandensein von zahlreichen Guarnierischen Körperchen am 5. Tage nach der Impfung an den Impfstellen. Von den Impfungen mit Organsaft war keine einzige positiv. Die Impfstellen waren schon nach 2 Tagen mit bloßem Auge kaum noch zu erkennen; sie verschwanden wie sterile Hornhautverletzungen schnell.

Dieselben Resultate erhielten wir bei 6 weiteren Versuchsreihen, wobei ebenso wie vorher meist junge, zwischendurch aber auch einmal ältere Tiere genommen wurden. Bei diesen Versuchen war die Impfung der Ausgangstiere stets zunächst beiderseits korneal erfolgt, außerdem aber gleichzeitig noch bei 3 Tieren intraperitoneal ( $\frac{1}{2}$ , 1 und 2 Portionen Lymphe), bei 1 Tier subkutan und intraperitoneal (1 Portion Lymphe), bei 1 Tier kutane Einreibung und intraperitoneal (1 Portion) und endlich bei 1 Tier intraperitoneal, intravenös und subkutan (im ganzen 3 Portionen Lymphe). Die Impfung mit Organsaft der infizierten Tiere geschah am 5.—7. Tage nach der Infektion. Schließlich wurde noch ein Impfversuch mit Filtrat von Blut und Nierensaft eines beiderseits korneal infizierten und erkrankten, sowie gleichzeitig mit 3 Portionen Lymphe intraperitoneal infizierten Kaninchens am 6. Tage nach Infektion gemacht. Die Filtration geschah mit Hilfe einer Druckpumpe unter 6—7 Atmosphären Druck durch Chamberland-Filter. Das Filtrat erwies sich auf den gebräuchlichen Nährböden — auch bei anaërober Züchtung — als steril. Auch wurden zur Kontrolle dieselben Säfte von normalem Kaninchen unter denselben Bedingungen geprüft. Auch diese Filtrate waren steril. Auf die im Filtrat gefundenen Formelemente werden wir noch eingehen. — Bei beiden Tieren war kein positiver Impferfolg zu verzeichnen. Die Impfstiche heilten wie sterile Verletzungen.

Mit den angeführten 11 Versuchen konnte ein Kreisen des Vaccineerregers im Kaninchenkörper am 5. bis 7. Tage nach der Impfung in einer für die Kaninchenhornhaut spezifisch wirksamen Form (Erzeugung von Guarnierischen Körperchen) nicht erwiesen werden, selbst nicht bei Kombination mehrerer Infektionsarten und bei Einverleibung von mehreren Portionen Lymphe. Mit unseren Resultaten stimmen die von Prowazek (31) überein, der bei 39 Versuchen weder nach kornealer noch nach intraperitonealer Infektion ein positives Resultat bei Impfungen mit Blut oder Organsaft der infizierten Tiere erhielt, weder nach mehreren Stunden, noch nach längerer Zeit (57 Tage). Auch Jürgens (22) hatte bei Verimpfung von Organen korneal infizierter Kaninchen stets negative Resultate. Endlich spricht sich auch Haa-

land (16) auf Grund von 3 Impfversuchen mit Organstücken nach intrapulmonaler + kornealer, einmal + intraperitonealer und intrarenaler Injektion gegen die Annahme des Kreisens des Virus im Kaninchenkörper aus.

Diese und unsere Resultate bestätigen die Angaben Siegels, daß das Vaccinevirus schon 12 Stunden nach der Impfung in lebhafter Teilung begriffen, im Blut und in den Organen zu finden sei, und daß der Höhepunkt der Entwicklung am 5. Tage (früher am 3. Tage angegeben) sei, nicht. Wenn alsdann der Pockenerreger in solch enormen Mengen im Blut und in den Organen vorhanden wäre, dann würde die Erklärung fehlen, warum die mit Blut und Organsaft vorgenommenen Impfungen kein positives Resultat hatten, zumal wir in der Kaninchenhornhaut bekanntlich ein äußerst empfindliches Reagens für das Vaccinevirus haben. Erzielte doch v. Prowazek noch mit Lymphverdünnungen von 1:1000 positive Impfsresultate auf der Hornhaut. — Soviel aus den Arbeiten Siegels ersichtlich, hat er in dieser Hinsicht auf experimentelle Nachweise verzichtet, nachdem von 3 Hornhautimpfungen mit unter 10—15 Atmosphären Druck durch Chamberland-Filter gepreßtem Nierensaft eines vor einigen Tagen infizierten Tieres eine Impfung den Nachweis der Guarnierischen Körperchen erbracht hatte (38). Auf diesem Versuch hat die von Siegel aufgestellte Behauptung, daß das Vaccinevirus im Kaninchenkörper kreise, ihre Hauptstütze. Denn die oben erwähnte einmalige positive Impfung mit Nierensaft [v. Wasielewski (52)] am 5. Tage nach Infektion wurde erst später bekannt.

Bei einem für die ganze Theorie so grundwichtigen Versuch, der zugleich die Filtrierbarkeit des Pockenerreges beweisen soll, hätte man erwarten müssen, daß Siegel den Nachweis der Guarnierischen Körperchen zum mindesten durch Weiterimpfung auf der Kaninchenhornhaut befestigt hätte, zumal aus seinen Angaben nicht hervorgeht, ob das einmalige positive Impfsresultat den Bedingungen entspricht, die für den Nachweis der Guarnierischen Körperchen aufgestellt werden müssen (vergl. oben). In der Literatur über die Guarnierischen Körperchen ist wiederholt darauf hingewiesen, daß auch bei Kontrolluntersuchungen häufig nach Impfungen der Hornhaut mit verschiedenem Material Körperchen entstehen können, die von den Guarnierischen oft schwer zu unterscheiden sind, so z. B. Bruchstücke von roten Blutkörperchen (v. Wasielewski) bei Organimpfungen. Auch wir haben wiederholt, so namentlich, wenn nach Impfungen starke Eiterungen auftraten (so einmal bei einer Panophthalmie) den Guarnierischen Körperchen ähnliche Gebilde gesehen. Auch haben wir mit den verschiedensten Mitteln (unter anderem auch auf Anregung von Herrn Prof. Frosch mit Bienen- und Wespenstichen) auf der Hornhaut Guarnierischen Körperchen zu erzeugen versucht. Wir erhielten nie typische Körperchen trotz mitunter erheblicher Reizung der Hornhaut, so z. B. bei den Wespenstichversuchen und bei Impfungen mit konzentrierter Kantharidentinktur. Unter Beobachtung der oben aufgestellten Forderungen kann man die zweifelhaften Gebilde stets von den echten Guarnierischen Körperchen trennen, an deren Spezifität für den Pockenprozeß auch wir nicht zweifeln. (Forts. folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Die Tuberkulose bei der Bienenmotte (*Galeria melonella*).

[Aus dem Zoologischen Laboratorium der Akademie der Wissenschaften in St. Petersburg.]

Von **S. Metalnikoff.**

Mit 2 Tafeln.

Die Raupen der Bienenmotte oder Wachsschabe leben bekanntlich in Bienenstöcken, wo sie sich von dem Gerüst der Waben nähren, wobei das den Hauptbestandteil der Waben bildende Wachs nicht etwa als eine unnütze Zutat zu der Speise erscheint, welche die Raupe leicht entbehren könnte, sondern als ein wesentlicher Bestandteil derselben. Durch Versuche mit künstlicher Ernährung (Sieber und Metalnikoff, Ueber Ernährung und Verdauung der Bienenmotte. Arch. f. d. ges. Phys. Bd. CII) ist nachgewiesen worden, daß die Raupen der Bienenmotte zu Grunde gehen, wenn in ihrer Nahrung kein Wachs enthalten ist.

Verhält sich dies in der Tat so, d. h. dient das Wachs in der Tat als Nahrung und wird verdaut und assimiliert, so kann kein Zweifel darüber bestehen, daß in dem Darintraktus der Bienenmotte besondere Fermente für die Auflösung des Wachses vorhanden sein müssen.

Ogleich es mir bis jetzt noch nicht gelungen ist, dieses Ferment aus dem Darne abzuscheiden, so ist es nichtsdestoweniger vorhanden, indem das Wachs, welches von den Raupen aufgenommen wird, sich in deren Darne in gelöstem Zustande vorfindet.

Andererseits wissen wir, daß der Tuberkelbacillus von einer besonderen Membranhülle umgeben ist, welche aus einer wachssähnlichen Substanz besteht. Diese Hülle ist es nun aller Wahrscheinlichkeit nach, durch welche die den Tuberkelbacillus auszeichnende ungewöhnliche Widerstandsfähigkeit bedingt wird. Alle Substanzen, welche Wachs und die Wachshülle der Tuberkelbacillen auflösen, erweisen sich als in hohem Grade giftig für alle lebenden Zellen. Aus diesem Grunde wäre es von besonderem Interesse und dabei vielleicht auch in praktischer Hinsicht von großem Vorteil, eine Substanz ausfindig zu machen, welche spezifisch auf das Wachs einwirken würde, ohne gleichzeitig dem Organismus zu schaden. Eine derartige Substanz muß zweifelsohne in dem Darne der Wachsmottenraupe enthalten.

Die Untersuchung dieser Frage bildet den Gegenstand des vorliegenden Aufsatzes.

Naturgemäß begann ich mit der Untersuchung derjenigen Veränderungen, welchen der Tuberkelbacillus im Darne der Raupe unterworfen wird.

Zu diesem Zwecke fütterte ich Raupen der Bienenmotte mit Tuberkelbacillen. Zuerst nahm ich abgestorbene Bacillen, bereitete aus ihnen eine dicke Emulsion, vermischte dieselbe mit feingesiebttem Wabenwachs und trocknete die Mischung. Dieses letztere tat ich, um die Mischung von Tuberkelbacillen und Wachs wirksamer zu machen, indem sich bei dieser Methode ein jedes Körnchen Wachs als von Tuberkelbacillen allseitig beklebt erwies.

Die Raupen fraßen diese Mischung sehr gern. Nach einer bestimmten

Zeit tötete ich die Raupen und untersuchte ihren Darminhalt sowohl auf den Objektträger gestrichen als auch auf Schnitten.

Es gibt zwei Methoden, um festzustellen, ob die Auflösung der Tuberkelbacillen im Darme stattgefunden hat oder nicht: entweder man vergleicht ein Quantum Tuberkelbacillen aus den vorderen Abschnitten des Darmes mit einem Quantum, welches man den hinteren Abschnitten des Darmes entnommen hat, oder aber man untersucht verschiedene Stadien in dem Zerstörungsprozeß der Tuberkelbacillen.

Die erstere Methode ergab ein negatives Resultat. In allen Fällen fand ich im hinteren Darmabschnitte mehr Tuberkelbacillen als im vorderen. Dieses Verhalten läßt sich natürlich dadurch erklären, daß im Enddarm eine Konzentration des Darminhalts und die Bildung der Exkremente vor sich geht. In den Exkrementen selbst, welche ich auf einen Objektträger strich, fand ich stets eine große Menge von Tuberkelbacillen.

Indem ich den Darminhalt auf den Objektträger gestrichen und auf Schnitten untersuchte, beobachtete ich in seltenen Fällen eine Art von Auflösung der Tuberkelbacillen, allein dies fand so selten und in so geringen Quantitäten statt, daß ich mich nicht darüber auszusprechen wage, ob die Tuberkelbacillen in dem Darme der Bienenmottenraupe in der Tat zerstört werden oder nicht.

Nachdem ich mit dieser Methode keine faktischen Resultate erzielt hatte, ging ich an die Untersuchung derjenigen Veränderungen, welchen die Tuberkelbacillen bei dem Einführen in die Leibeshöhle unterliegen.

Für meine Versuche verwandte ich äußerst virulente Kulturen (im Alter von 1—2½ Monaten). Ich bereitete aus denselben eine Emulsion, welche ich mit Hilfe einer besonderen sterilisierten Pipette mit ausgezogenem spitzen Ende in die Leibeshöhle der Raupen einspritzte. Dabei führte ich den Raupen ungeheure Quantitäten lebender Tuberkelbacillen ein, in einigen Fällen 1—2 Tropfen, d. h. ebensoviel, wie die Raupe überhaupt Blut enthält.

Nach Ablauf einer bestimmten Zeit untersuchte ich das Blut der injizierten Raupen. Zu diesem Zweck fertigte ich ein dünnes Kapillarröhrchen mit ausgezogenem spitzen Ende an, welches ich vorsichtig durch die Leibeswand der Raupe hindurchstieß. Dabei wird ein kleines Quantum von Blut in das Röhrchen aufgesogen. Die Tiere vertragen diese Operation ausgezeichnet, obgleich ich dieselbe Dutzende von Malen an ein und demselben Tiere vornehmen mußte.

Das auf diese Weise erbeutete Blut strich ich in dünner Schicht auf den Objektträger und fixierte in der gewohnten Weise mit einem Gemisch von absolutem Alkohol und Aether. Die Färbung führte ich in folgender Weise aus: Zuerst tauchte ich das Präparat auf 2—3 Minuten in Hämatoxylin, um die Blutkörperchen zu färben und — nachdem ich gewaschen hatte — auf 15 Minuten in Fuchsin von Ziel und auf 20 Sekunden in Chlorhydrate d'aniline; sodann wurde die Farbe mit absolutem Alkohol so lange ausgezogen, bis das Präparat keine Spuren von Fuchsin mehr aufweist.

Mit Hilfe dieser Methoden konnte ich die Vorgänge im Blute der injizierten Raupe Schritt für Schritt verfolgen.

Eine halbe Stunde nach erfolgter Injektion befinden sich sämtliche Tuberkelbacillen bereits innerhalb der Phagocyten (s. Fig. 1). Nach 1—2 Stunden beginnen sich Leukocyten mit großen braunen Vakuolen zu zeigen. Bei genauerer Untersuchung dieser braunen Vakuolen gelang

es mir, Spuren halberzstörter Bacillen in denselben nachzuweisen. Neben braun und dunkel gewordenen Vakuolen konnte ich bisweilen Vakuolen beobachten, welche mit noch ganz normalen, mit Fuchsin gut färbbaren Bacillen gefüllt waren. Späterhin gelang es mir, sämtliche Uebergangsformen von dem normalen, gut färbbaren Bacillus bis zu dem braun gewordenen Bacillus aufzufinden.

Alles dieses veranlaßte mich zu der Schlußfolgerung, daß das braune Pigment, welches innerhalb der Vakuolen beobachtet wird, unzweifelhaft ein Produkt des Zerfalls der Tuberkelbacillen darstellt und daß die Phagocyten der Raupen die Fähigkeit besitzen, die Tuberkelbacillen mit außergewöhnlicher Geschwindigkeit zu verdauen. Alles dieses wurde durch fernere Versuche bestätigt.

Neben der Zerstörung der Tuberkelbacillen innerhalb besonderer Vakuolen ist es mir gelungen, auch die Zerstörung von Bacillen in dem Protoplasma der Phagocyten zu beobachten. Offenbar werden die Vakuolen nur in dem Falle gebildet, wenn die Phagocyten eine außerordentlich große Anzahl von Bacillen verschlucken. In dem Falle jedoch, wenn die Phagocyten nur vereinzelte Bacillen aufnehmen, werden diese letzteren unmittelbar in dem Protoplasma ohne Bildung von Vakuolen zerstört, wobei diejenigen Veränderungen gut verfolgt werden können, welchen die Bacillen bis zum vollständigen Zerfalle unterliegen.

Zuerst verliert der Bacillus die Fähigkeit, sich zu färben, wobei nicht selten der eine Teil derselben noch Farbstoffe annimmt, während der andere Teil diese Fähigkeit bereits verloren hat. Sodann beginnt der Bacillus an Umfang zuzunehmen, gleichsam anzuschwellen, und nimmt gleichzeitig eine andere Farbe an. Er wird zunächst gelblich-braun, sodann schwarzbraun.

Indem ich das Blut injizierter Raupen in größeren Zeitintervallen untersuchte, konstatierte ich ein allmähliches Verschwinden der Tuberkelbacillen. Schon 24 Stunden nach erfolgter Injektion hatte die Zahl der Bacillen bedeutend abgenommen; nach 40 Stunden fand ich in den meisten Fällen bereits keine Tuberkelbacillen mehr, weder außerhalb der Leukocyten, noch innerhalb derselben, mit Ausnahme derjenigen Fälle, wo ich dem Organismus ganz ungeheure Mengen von Bacillen eingespritzt hatte. In solchen Fällen gelang es mir selbst nach Verlauf von 60 Stunden noch Spuren von Bacillen nachzuweisen.

Die mit Tuberkelbacillen injizierten Raupen vertrugen diese Operation ganz vorzüglich. Sie fuhrten fort, in durchaus normaler Weise zu leben, ohne eine bestimmte Reihe von Tagen hindurch irgend welche Merkmale von Krankheit an den Tag zu legen, und verwandelten sich darauf in die Puppe und den Falter.

Alles dieses weist darauf hin, daß die Raupe der Bienenmotte unzweifelhaft die Fähigkeit besitzt, den Kampf mit der Tuberkulose erfolgreich aufzunehmen. Um mit dem Prozeß dieses Kampfes näher bekannt zu werden, setzte ich meine Untersuchungen unter Anwendung anderer Methoden fort.

Vor allem fertigte ich Strichpräparate an. Zu diesem Zwecke schnitt ich Raupen auf, entnahm denselben einige Organe, wie z. B. den Fettkörper oder das Herz, und strich dieselben auf einen Objektträger. Bald bemerkte ich in der Leibeshöhle auf einigen Organen kleine schwarze Flecken. Indem ich diese dunkelgefärbten Bildungen auf dem Objektträger zerquetschte und in der üblichen Weise färbte, überzeugte ich mich davon, daß diese dunklen Gebilde aus einer ungeheuren Anzahl

von Tuberkelbacillen bestehen, welche ein kompaktes Klümpchen bilden. Alle diese Bacillen befinden sich auf verschiedenen Stadien des Zerfalles. Einige von ihnen färben sich gut mit Fuchsin und unterscheiden sich in keiner Weise von normalen Bacillen, andere sind bereits braun geworden. Auf solchen Präparaten lassen sich alle Stadien der Zerstörung sehr gut verfolgen. Zuerst verliert der Bacillus die Fähigkeit, sich mit Fuchsin zu färben. Sodann erfolgt die Ausscheidung eines gewissen Pigmentes. Die Hülle wird zunächst gelbbraun, darauf ganz dunkel. Gleichzeitig geht ein Anschwellen des Bacillus und ein Verschmelzen mit benachbarten Bacillen vor sich. Mit einem Worte, es kommt dasselbe Bild zur Beobachtung, wie innerhalb der Leukocyten, nur in einem großartigen Maßstabe (s. Fig. 11).

Die Zahl solcher dunkler Flecken im Körper der Raupe hängt von der Menge der injizierten Bacillen ab. Injiziert man eine außerordentlich große Anzahl von Bacillen, wie ich dies in der letzten Zeit ausführte, so kann die Anzahl solcher dunkler Gebilde eine sehr große sein. Auch die Größe dieser Gebilde kann eine außerordentlich verschiedene sein und hängt ebenfalls von der Menge der injizierten Bacillen ab. Neben kleinen dunklen Knötchen, welche nur unter der Lupe zu unterscheiden sind, finden sich Gebilde von Stecknadelkopfgroße (s. Fig. 3). Alle diese Gebilde liegen unregelmäßig im ganzen Körper zerstreut. Gewöhnlich sind es deren sehr viele im hinteren Körperabschnitte, in besonders großer Anzahl treten sie jedoch in der Nähe von derjenigen Stelle auf, wo die Injektion ausgeführt wurde.

Man wird voraussetzen müssen, daß die Hauptmasse der injizierten Bacillen nicht die Zeit hat, sich sofort nach der Injektion in das Innere des Körpers gleichmäßig mit dem Blute zu vermischen, sondern sich in der Nähe der Injektionsstelle absetzt.

Hier geht auch die Verdauung der Tuberkelbacillen und deren Verwandlung in dunkelbraune Flecken vor sich.

Die Geschwindigkeit, mit welcher die Bildung dieser Knoten und die Zerstörung der Tuberkelbacillen vor sich geht, ist eine ganz erstaunliche. Bereits eine Stunde nach erfolgter Injektion fand ich in der Höhlung des Körpers dunkle Gebilde, welche davon Zeugnis ablegen, daß der Prozeß der Verdauung der Tuberkelbacillen begonnen hat.

Um die Frage zu entscheiden, wie diese dunklen Knoten gebildet werden und welche geformten Elemente an ihrer Bildung Anteil nehmen, wandte ich mich dem Studium von Schnitten zu.

Die mit Tuberkelbacillen injizierten Raupen werden nach Ablauf einer bestimmten Zeit getötet und fixiert; letzteres erfolgte in kochendem Alkohol oder in heißem Sublimat mit Essigsäure. Das Fixieren mit Sublimat gibt natürlich bessere Bilder als die Behandlung mit Alkohol. Die Färbung wurde mit Hämatoxylin und mit Fuchsin von Ziel vorgenommen.

Schon auf den ersten Schnitten bemerkte ich jene dunklen Bildungen, welche ich nach obiger Methode untersucht hatte. In den meisten Fällen zeigten dieselben folgenden Bau (s. Fig. 8). In der Mitte befindet sich eine dunkle Masse, welche aus einer ungeheuren Menge von Bacillen auf allen Stadien des Zerfalles besteht. Einige derselben zeigen ein normales Aussehen, andere sind gebräunt und haben an Umfang zugenommen, wieder andere endlich haben ihre regelmäßige Gestalt verloren und befinden sich auf dem Wege der Zerstörung und der Verschmelzung mit den benachbarten Bacillen.

Diese ganze kompakte Masse ist von einer dicken Schicht spindelförmiger, stark in die Länge gezogener Zellen umgeben, welche eine richtige Kapsel um diese Masse bilden.

Wie entsteht nun die Bildung dieser Kapsel und woher kommen diese spindelförmigen Zellen?

Um diese Frage zu entscheiden, untersuchte ich Raupen 1, 2 und 3 Stunden nach erfolgter Injektion, wobei es sich herausstellte, daß die spindelförmigen Zellen unmittelbar aus den Leukocyten hervorgehen. Es ist mir gelungen, alle Uebergangsstadien zwischen echten Leukocyten und diesen in die Länge gezogenen Zellen zu finden.

Nicht selten kann man um die Kapsel herum eine ziemlich dicke Schicht von Zellen beobachten, welche aus typischen Leukocyten und Bindegewebszellen besteht; diese Zellen bilden in einigen Fällen eine Art von adenoidem Gewebe. In den Maschen dieses Gewebes liegen einzelne Phagocyten, bisweilen auch Gruppen von solchen. Alles dieses erinnert in hohem Maße an das Gewebe von lymphatischen Organen (Fig. 7 und 8).

An der Bildung der bindegewebigen Grundsubstanz sowie der spindelförmigen Zellen der Kapsel nehmen nicht alle Leukocyten teil.

Im Blute der Raupen unterscheidet man gewöhnlich mehrere Arten von Blutkörperchen. Neben den gewöhnlichen, die Bakterien verzehrenden Phagocyten finden sich besondere Zellen, welche die Fähigkeit zur Phagocytose nicht besitzen. Diese Zellen sind etwas kleiner als die Phagocyten und enthalten einen großen Kern, sowie eine sehr beschränkte Menge von Protoplasma. Augenscheinlich stellen diese Zellen jüngere Stadien eben dieser Phagocyten dar. Es sind dies undifferenzierte Leukocyten, embryonale Zellen, aus welchen später verschiedene, zu speziellen Zwecken angepaßte Zellen entstehen können.

Die Kapseln bilden sich nicht in den Geweben, sondern in der Leibeshöhle und liegen hier vollkommen frei, ohne mit irgend welchen anderen Organen oder mit Geweben in nähere Verbindung zu treten. Durch diesen Umstand wird die Aufgabe bedeutend erleichtert, die Entstehungsweise der Kapseln festzustellen.

Die Kapseln bilden sich gewöhnlich nach  $1\frac{1}{2}$ —2 Stunden. Untersucht man das Tier sofort oder sehr bald nach der Injektion, d. h. nach etwa 20, 30, 40 oder 50 Minuten), so sind noch keine Kapseln vorhanden, dagegen beobachtet man sehr viele Ansammlungen von Leukocyten, wobei sich ein Teil der Tuberkelbacillen innerhalb der Leukocyten befindet, eine ungeheure Menge derselben jedoch zwischen den Zellen liegt.

Alles dieses zusammen bildet einen großen kompakten Klumpen, welcher aus Leukocyten und Bacillen besteht (s. Fig. 4). Die Leukocyten bilden nicht nur Ansammlungen, sondern sie verschmelzen auch untereinander und verwandeln sich in vielkernige Plasmodien. Derartige Plasmodien fand ich auch bei der Untersuchung des Blutes (s. Fig. 2). Neben kleineren, aus der Verschmelzung weniger Leukocyten entstandenen Plasmodien finden sich auch außerordentlich große Plasmodienmassen mit einer großen Anzahl von Kernen. In einigen Plasmodien zählte ich über 50 Kerne. Die Kerne sind mehr oder weniger gleichmäßig über den ganzen Körper des Plasmodiums verteilt (Fig. 6).

In dem Protoplasma befindet sich eine große Anzahl Vakuolen von verschiedener Größe, ebenso Massen von Bacillen, welche auf verschiedenen Stadien der Zerstörung angelangt sind. Die Mehrzahl der Bacillen

ist bereits zerstört und in eine dunkelbraune Masse verwandelt, obgleich seit der Injektion noch keine volle Stunde vergangen ist. In einigen Fällen sind die Bacillen in dem Protoplasma der vielkernigen Plasmodien derart angeordnet, daß die Grenzen der einzelnen Zellen, aus welchen das Plasmodium besteht, scharf ausgesprochen sind (s. Fig. 5).

Alles dieses weist deutlich darauf hin, daß das Plasmodium durch die Verschmelzung einzelner Leukocyten entstanden ist, wobei die Bacillen, welche ursprünglich zwischen den Zellen lagen, sich nunmehr innerhalb der Plasmodien befinden.

Während die innerhalb der Plasmodien liegenden Bacillen sich im Zustande der Zerstörung befinden, färben sich die in den nebenan im Blute liegenden Leukocyten eingeschlossenen Bacillen sehr gut mit Fuchsin und besitzen ein normales Aussehen. Die Verdauung der Bacillen geht demnach innerhalb der Plasmodien rascher vor sich als innerhalb der einzelnen Leukocyten. Die Bildung von Plasmodien erfolgt augenscheinlich zu dem Zwecke, den Verdauungsprozeß zu erhöhen. Bei der Aufnahme von Nahrung durch Phagocyten, bei der sogenannten intracellulären Verdauung, können nur geringe Dosen der aufgenommenen Substanzen verdaut werden. In denjenigen Fällen aber, wo größere Quantitäten auf einmal verdaut werden sollen, wird dieses durch die gemeinschaftliche Tätigkeit vieler Zellen zu Wege gebracht. Es werden dann Plasmodien gebildet, wobei alle diejenigen Substanzen, welche verdaut werden sollen (nachdem sie nicht von den einzelnen Leukocyten aufgenommen werden konnten) und sich zwischen den Zellen befinden, in das Innere der Plasmodien gelangen und alle zusammen mit einem Male der Einwirkung einer großen Quantität verdauender Säfte ausgesetzt werden.

Der gleiche Zweck wird in vielen Fällen durch Phagolyse, d. h. durch den Zerfall der Zellen erreicht, allein dieses Mittel ist weniger wirksam, da bei dem Zerfall der Phagocyten die freigewordenen verdauenden Fermente in der gesamten Flüssigkeit des Blutplasmas aufgelöst werden. Aus diesem Grunde erscheint es, vom Standpunkte der Zweckmäßigkeit betrachtet, vorteilhafter, daß zuvor die Fixierung aller jener Elemente, welche verdaut werden sollen, d. h. im gegebenen Falle der Tuberkelbacillen, an einer bestimmten Stelle vor sich gehe.

Dieses Ziel wird durch die Bildung jener Anhäufungen von Leukocyten mit Massen von Bacillen erreicht, welche wir unmittelbar nach der Injektion der Bacillen beobachten. Solche Anhäufungen von Leukocyten fand ich mehrmals bei der Raupe der Bienenmotte, ebenso wie auch bei vielen anderen Insekten, nach dem Einspritzen verschiedener Pulver, z. B. von Karmin und Tusche.

Wodurch kann man nun aber ein so zweckmäßiges Vorgehen von seiten der Leukocyten erklären, welches dazu noch häufig mit einer Aufopferung der eigenen Existenz verknüpft ist? Man wird wohl kaum zugeben können, daß die Blutkörperchen sich in solchen Fällen durch irgend eine bewußte Tätigkeit leiten lassen.

Diese Erscheinung läßt sich augenscheinlich auf einfachere Weise erklären. Injiziert man der Bienenmottenraupe Karminpulver in physiologischer Kochsalzlösung und untersucht sodann das Blut 15, 20 und 30 Minuten nach erfolgter Injektion, so kann man folgenden Vorgang beobachten. Anfangs findet eine nur schwach ausgesprochene Phagocytose statt, allein statt dessen kann man beobachten, wie viele Phagocyten gleichsam mit Karminkörperchen dicht beklebt sind. Gleichzeitig



bemerkt man Gruppen von miteinander verklebten Phagocyten und großen Karminmassen.

Offenbar scheiden die Phagocyten unter der Einwirkung des auf sie ausgeübten Reizes eine gewisse klebrige Flüssigkeit aus, vermittelt welcher sie miteinander verklebt werden und gleichzeitig die im Blute suspendierten Fremdstoffe an ihrer Oberfläche festhalten. Dieses ist aller Wahrscheinlichkeit nach die Ursache für die Bildung von Anhäufungen, bestehend aus Phagocyten und injizierten Fremdkörpern.

Von Interesse ist das weitere Schicksal der Plasmodien.

2—3 Stunden nach der Injektion der Tuberkelbacillen fand ich meistens statt der Plasmodien eine große Anzahl Kapseln von der verschiedenartigsten Größe. Indem ich den Bau dieser Kapseln auf dünnen Schnitten genauer untersuchte, bemerkte ich, daß in vielen Fällen der zentrale, von zerstörten und halbzerstörten Tuberkelbacillen erfüllte Teil der Kapsel nichts anderes darstellt als den Ueberrest eines Plasmodiums. Die Kerne sind deutlich zu erkennen, bisweilen sogar Ueberreste des Protoplasmas der das Plasmodium aufbauenden Zellen (s. Fig. 8).

In gewissen Fällen ist das Plasmodium innerhalb der Kapsel so wohl erhalten, daß sowohl die Kerne als auch das Protoplasma mit großen Vakuolen zu sehen sind, wobei diese letzteren von Tuberkelbacillen und deren Zerfallsprodukten erfüllt sind (s. Fig. 7). In den meisten Fällen ist jedoch der zentrale Abschnitt der Kapsel derart mit den Zerfallsprodukten von Tuberkelbacillen angefüllt, daß wegen dieser letzteren das Protoplasma, aus welchem die Kapsel entstanden ist, nicht mehr unterschieden werden kann.

Nicht selten fand ich in der Leibeshöhle der injizierten Raupen außer den Kapseln auch noch dunkelbraune Massen, in welchen ich mit Leichtigkeit die Produkte des Zerfalles von Tuberkelbacillen erkennen konnte, um so mehr als in diesen Gebilden ziemlich häufig typische Tuberkelbacillen in verschiedenen Stadien der Zerstörung zu beobachten sind (s. Fig. 10). Alle diese Zerfallsprodukte von Tuberkelbacillen befinden sich außerhalb der Kapseln. Man müßte demnach die Tatsache als feststehend ansehen, daß die Tuberkelbacillen außerhalb der Zellen in dem Blutplasma der Bienenmottenraupe dem Zerfalle unterliegen. Bei genauerer Untersuchung dieser Gebilde bemerkte ich jedoch in einigen Fällen Spuren von Zellen im Inneren. Alles dieses berechtigt uns zu der Annahme, daß auch diese Bildungen, in vielen Fällen wenigstens, nichts anderes darstellen als Ueberreste von Plasmodien, obgleich es nicht unwahrscheinlich sein dürfte, daß auch das Blutplasma selbst Substanzen enthält, welche im stande sind, die Tuberkelbacillen zu zerstören.

(Schluß folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Ueber die pathogene Wirkung der in die Trachea geimpften Blastomyceten.

[Aus dem Hygienischen Institut der K. Universität Messina.]

Von Prof. Francesco Sanfelice.

Mit 1 Tafel.

### I.

Bis heute beschränkten sich fast alle Beobachtungen der pathogenen Wirkung der Sproßhefen auf das Studium der Effekte, welche das Impfen des Parasiten in das subkutane Bindegewebe, in die Bauchhöhle, in einige spezielle Organe, in den Kreislauf hervorbringt und Infektionen unter Verhältnissen hervorruft, die von den auf natürlichem Wege auftretenden bedeutend differieren müssen. Höchst selten machte man den Versuch, auf besonderen Zellbezirken durch direkte Berührung mit den Hefen die Ansteckung zu erregen, um einerseits an dem Parasiten, andererseits an den Zellelementen die stattfindenden Veränderungen zu verfolgen. Plimmer nahm an Kaninchen Impfungen der Cornea vor und erzeugte dadurch Wucherungen am Epithel der Hornhaut unter gleichzeitigem Auftreten von Parasiten im Inneren dieser Zellen. Meine Versuche, das Hornhautepithel von Hunden mit pathogenen Hefen zu infizieren, bestätigten die von Plimmer an Kaninchen beobachteten Resultate. Doch muß in Betracht gezogen werden, daß das Epithel der Cornea Schädigungen jeder Art allzusehr ausgesetzt ist und sich daher zum Beobachtungsfeld eingehenden und akkuraten Studiums wenig eignet, wo es sich darum handelt, die durch Kontakt mit den Hefen an den Epithelien möglicherweise erregbare pathogene Wirkung zu konstatieren. Dazu kommt noch, daß dem Impfen, soll der Parasit auf dem Hornhautepithel gedeihen, stets ein leichtes Schröpfen der Oberfläche mit scharfem Instrument vorausgehen muß; es heißt dies einer Infektion seitens der, wie fast immer in der Conjunctiva befindlichen pathogenen Keime direkt in die Hand arbeiten.

Uebrigens konnte am Hornhautepithel auch nur von derjenigen Wirkung die Rede sein, welche der Parasit ohne seine in vitro erzeugten löslichen Produkte auszuüben fähig war; denn was die Kulturflüssigkeiten betrifft, so kamen sie an der Oberfläche des Epithels in kürzester Zeit abhanden. Ich entschloß mich daher zu einer Serie neuer Studien und ging dabei von der direkten Impfung pathogener Blastomycetenkulturen in die Trachea von Meerschweinchen und Kaninchen aus, um so die Umgestaltung der Parasiten wie der Gewebe einer fortgesetzten genauen Beobachtung zu unterziehen.

Nachdem das Versuchstier in den Zustand absoluter Bewegungslosigkeit versetzt war, legte man die Trachea bloß und applizierte — zur Verhütung der Infektion der Wunde — eine kleine sterilisierte Kanüle, durch die das Impfmateriel in den Atmungsapparat gelangte; vor Entfernung des Schutzröhrchens ließ man zu dessen Reinigung ein wenig sterilisiertes Wasser durchlaufen. Dann wurde die Wunde zugenäht. Bei Beobachtung dieser Vorsichtsmaßregeln kam es bei den operierten Tieren nie zu irgend welcher lokalen Infektion.

Die Experimente zerfielen in verschiedene Serien, sowohl für Meerschweinchen als auch Kaninchen.

Die erste befaßte sich mit dem Studium der Wirkung, welche Parasiten allein, d. h. ohne die Kulturprodukte *in vitro*, hervorbringen. Von der Oberflächenkultur auf Kartoffeln entnahm man einen kleinen Belagteil, zerrieb ihn mit sterilisiertem Wasser zur Emulsion und spritzte diese in kleinen Dosen in die Bronchien.

Die zweite Versuchsreihe betrachtet die pathogene Aktion der auf Kartoffeln und Most gezüchteten und durch Wärme abgeschwächten Kulturen. Zu diesem Zweck fügte man den auf Kartoffeln kultivierten Kolonien im Moment der Verwendung etwas sterilisiertes Wasser im Röhrchen zu, erhitze und verrührte mit dem Glasstab zu Brei, der in geringer Quantität zum Impfen der Bronchien diente. In Most aufgezogene Kulturen wurden der Wärme direkt ausgesetzt und nach den vorerwähnten technischen Regeln in ganz minimen Mengen den Luftröhrenästen injiziert.

Eine dritte Serie der Impfversuche erfolgte nach gleichem Modus wie die vorhergehenden und mit demselben auf Kartoffeln und in Most gezüchteten Impfmateriel, nur mit dem Unterschiede, daß es nicht durch Erhitzen abgeschwächt war.

Konstatierte man das Auftreten durch endotracheales Impfen an den Lungen der behandelten Versuchstiere erzeugter Veränderungen, so handelte es sich darum, zu sehen, ob diese Läsionen mit solchen, die andere, aber auf gleiche Art und Weise eingeführte Mikroorganismen erzeugten, identisch seien oder nicht. Zu diesem Behuf infizierte man die Bronchien der Meerschweinchen und Kaninchen mit Kulturen von Oidien, Streptothricheen, *Aspergillus flavescens*, Tuberkulosebaccillen und Rotzbacillen.

Die Lungen der verendeten Tiere wurden mit den zumeist angewandten Fixierflüssigkeiten — essigsäures Sublimat, Flemmingsche und Hermannsche Lösung — fixiert. Die Schnitte färbte man zum Teil mit Lithiumkarmin und Genvianviolett zum Studium der Parasiten, zum Teil mit Hämalalaun behufs histologischer Untersuchung.

## II.

An die Spitze meiner Relation über die Sektionsbefunde von Meerschweinchen, die mehrere Tage nach der endotrachealen Impfung getötet wurden, stelle ich diejenigen, welche den Erfolg der auf Kartoffeln gezüchteten und mittels sterilen Wassers in Emulsion verwandelten Kulturen pathogener Hefen dartun.

Bei der Mehrzahl der Experimente diente als Infektionsmateriel *Saccharomyces canis*, nur bei wenigen kam Plimmers isolierte pathogene Hefe oder auch *Saccharomyces neoformans* in Anwendung. Die mit endotrachealem Verimpfen der letztgenannten zwei Blastomyceten erzielten Resultate erwiesen sich als durchaus identisch mit denen, die *Saccharomyces canis* zu Tage förderte. An 6 bis 7 Tage nach der Injektion getöteten Meerschweinchen war makroskopisch keinerlei Veränderung der Lungen wahrzunehmen. In den Schnitten traten die Parasiten in diskreter Menge, worunter eine mäßige Anzahl keimender Formen, auf; Fundort: die Bronchialverästelungen und Alveolen; höchst selten sieht man sie in den interstitiellen Räumen des Bindegewebes und in den Anhäufungen perivasaler Lymphocyten. In den Blutgefäßen fehlen sie ganz und gar. Ins Innere der Luftröhrenäste

und Alveolen vorgedrungen, fangen die Hefen zu wuchern an, nur ganz wenige passieren die Alveolenwandungen und kommen, von den Lymphströmen fortgeschwemmt, in den perivasalen Räumen zum Vorschein. Die im Gewebe entstandenen Veränderungen bestehen in starker Proliferation der Epithelzellen, die das Geäste der Bronchien überfluten, ferner in Vermehrung der Alveolenzellen, wovon einige, von den Wänden losgetrennt, sich frei im hohlen Raume zeigen; das Bild der Veränderungen vollendet das in größerer Zahl stattfindende Auftreten perivasaler Lymphocyten, besonders da, wo sich Parasiten aufhalten. An manchen Luftröhrenschnitten tritt die Epithelzellenwucherung in solchem Grade auf, daß der lichte Raum vollständig verstopft wird. Die Proliferation dieser Zellen, der sich noch ein Ueberwuchern des Peribronchialbindegewebes zugesellt, entsteht durch Wachsen des Faltenbelags, den das Bronchienepithel in normalem Zustand bildet; infolgedessen geraten die Falten durch Oberflächenvergrößerung in so enge Berührung miteinander, daß sich der Hohlraum schließt. Diese Erscheinung kommt namentlich an den Querschnitten der kleinen Bronchien zur Geltung.

Schon dieser erste Schritt auf dem Felde unserer Forschung bringt die bedeutungsvolle Tatsache zur Kenntnis, daß die pathogenen Hefen, wenn sie im Kontakt mit Epithelzellen sich vermehren, hierdurch zur Bildung löslicher Produkte befähigt werden, die ihrerseits wieder die Zellen zum Ueberwuchern reizen. Diesen löslichen Produkten ist jedoch keine nekrotische, sondern eine neoplastische Aktionskugel eingegeben; eine Bestätigung des Vorganges, den Plimmer und ich bei Impfversuchen am Hornhautepithel von Kaninchen und Hunden beobachtet hatten. Dagegen gelang es mir nicht, in diesen ersten Infektionsstadien den Parasiten im Zellkörper der Epithelelemente, die die Bronchien überziehen, aufzufinden.

Noch ein weiteres Faktum von Wichtigkeit geht aus diesen Untersuchungen hervor, die pathogene Einwirkung der Hefen beschränkt sich nämlich in der Hauptsache auf die Ueberkleidungszellen der Bronchien und dehnt sich nicht auf das Lungenparenchym aus, an dem mir, außer vermehrter Anhäufung von Perivasallymphocyten, nichts Abnormales auffiel.

An der Oberfläche der Lungen von Meerschweinchen, die nach 12–13–14 Tagen umgebracht wurden, erschienen mehr oder weniger große gelblichweiße Flecken, entsprechend den in den Schnitten von Parasiten in Besitz genommenen Gewebsregionen. Außer diesen Veränderungen an der Lunge nahm ich bei einigen Meerschweinchen dieser Versuchsreihe an der Milz kleine Knötchen wahr, die ziemlich viele Parasiten beherbergten.

Was an den Lungenschnitten dieser Versuchstiere den Beobachter auf den ersten Blick frappiert, ist das starke Zunehmen von Parasiten nicht nur in den Luftröhrenästen, den großen, mittleren und kleinen Bronchien und in den Alveolen, sondern auch im Lungenparenchym, sowie das Auftreten der gelblichweißen Flecke, die, mit bloßem Auge wahrnehmbar, den Sitz der Parasiten schon von außen zu erkennen geben. Wo solche Flecke erscheinen, ist übrigens die Reaktion des Gewebes nicht von großem Belang, sie reduziert sich auf die Bildung protoplasmareicher Zellkörper mit großem blasenförmigen Kern und allen Merkmalen epithelähnlicher Zellen. Wo solche Epitheloidzellen in Gruppen auftreten, stößt man hier und da auf Riesenzellen. Außerdem ist ziemlich starkes Ueberwuchern des Bronchienepithels und der Zellen,

die die Alveolen überziehen, bemerkbar. Ferner findet starke parvirelluläre Infiltration in die Perivaskulärlymphräume statt.

Bei Betrachtung der zahlreichen Lungenschnitte von dieser Versuchsserie zeigte es sich, daß der beträchtlichen Parasitenvermehrung keineswegs ein ebenso ansehnliches Ueberwuchern der Gewebe die Wage hält; es kam mir im Gegenteil vor, als stöße die excessive Zunahme von Hefen nur auf schwachen Widerstand seitens der Gewebe.

Der Sektionsbefund einiger nach 17, 18, 20—24 Tagen getöteter Meerschweinchen ergab echte diffuse Lungeninfektion. Das Organ war in toto bedeutend angewachsen und hepatisiert, welche Veränderung zum größten Teil einer Anhäufung von Parasiten und nur in geringem Maße der Gewebsreaktion zuzuschreiben war; letztere besteht im Ueberwuchern des Bronchialepithels und der Zellen, die die Alveolen auskleiden, im Auftreten von epithelartigen Zellen und in Zunahme der Perivasallymphocyten.

Nach 26—28—29 Tagen getötet oder nach 30—32 Tagen — dem Maximum der von mir beobachteten Lungeninfektion — verendet, wiesen diese Meerschweinchen an der Lunge bald diffuse, bald fleckige Veränderungen auf. War die Infektion diffus, so stimmte der mikroskopische Befund genau mit dem obenbeschriebenen überein; handelte es sich dagegen um Flecke, so zeigte das Gewebe beträchtlichere Proliferation. Es kamen epithelartige Zellenstriche mit wenigen Riesenzellen zum Vorschein und in den Alveolen wucherten die Verkleidungselemente solchermaßen, daß sie sie gänzlich ausfüllten; am Bronchialepithel sah man nicht nur den inneren Bezug an Faltenzahl zunehmen, sondern auch nicht selten Intraflektionen — zum Teil als Sackgassen — auftreten, die einen in Kommunikation mit dem Inneren der Luftröhre, von der sie stammten, andere völlig losgetrennt. Von letzteren umgaben viele, wie es sich bei einigen Schnitten zeigte, den Bronchus.

Diese histologischen Befunde bieten zwar einiges Interesse, insofern sie — die am Hornhautepithel gemachten Erfahrungen bestätigend — das Vermögen der Hefen, die Epithelialzellen, mit denen sie in Berührung kommen, zum Wuchern anzureizen, dartun. Dennoch konnte von gänzlicher Befriedigung nicht die Rede sein, weil die Reaktion des Gewebes, angesichts der namhaften Vermehrung der Parasiten, so karg ausfiel, daß es gewagt schien, über ihre Entität ein bündiges Urteil zu fällen. Auf diesem Umstand fußt die Idee, eine eigene Serie von Impfexperimenten mit durch Wärme abgeschwächten Kulturen auf Kartoffeln und in Most einzuschalten. Man setzte zu dem Behuf die Kulturen eine viertel bis halbe Stunde im Wasserbad der Temperatur von 70° C aus und nahm sodann nach den bisher angewandten Regeln der Technik die Tracheainjektion an Meerschweinchen vor. Erwähnter Wärmegrad reicht nicht hin, die Hefenpilze abzutöten, wie auch in der Tat sämtliche Impfungen mit vorgewärmten Kulturen positiv ausfielen.

Bei den 6—7 Tage nach der endotrachealen Injektion getöteten Meerschweinchen zeigten sich an der Lungenoberfläche kleine gelblich-weiße Flecke und im Schnitt hepatisierte Zonen von derselben Farbe. Als erstes bedeutungsvolles Faktum fiel an den Schnitten die ausnehmend schwache Vertretung von Parasiten auf; ganz im Gegensatz zu der Erscheinung, die bei demselben Versuchstier und gleichem Verfahren, doch mit bloßen Hefen vorgenommenem Impfen auftrat. Wahrscheinlich hemmt die Reaktion des Organismus das Umsichgreifen der Parasiten mit größerer Leichtigkeit, wenn diese durch Erwärmen abgeschwächt

sind. Eine zweite Tatsache von erheblicher Tragweite ist folgende: Während bei Injektion von Parasiten allein die Hepatisationszone der Lungen sich in der Hauptsache als Agglomerat von Hefen ausweist, während die Proliferation der Zellelemente nur nebensächlich daran teilnimmt, beruht bei den jetzt vorliegenden Versuchsobjekten der Hepatisationsprozeß im Gegenteil durchaus nur auf der Gewebsreaktion, und es kann somit von echter Neubildung gesprochen werden.

Waren an den Lungen der Meerschweinchen der ersten Experimentserie die histologischen Veränderungen kaum angedeutet, so fallen sie bei dieser zweiten Kategorie schon bedeutend mehr ins Gewicht. Vor allem beginnt die Reaktion bei den Zellen, welche die Verästelung der Luftröhre umkleiden. Die Ausbuchtungen am Bronchienepithel erscheinen in größerer Anzahl, als dies bei den Meerschweinchen der ersten Reihe der Fall war, und stets, sowohl im Quer- als im Transversal- und Längsschnitt der Bronchien, zeigen sie sich in rundlicher Gestalt, ein Beweis, daß es sich um taschenförmige Ausbuchtungen handelt. Der Zellentypus, welcher diese Ausbuchtungen überzieht, differiert etwas von dem der Stammzellen, von denen jene ausgehen. Auch die Alveolenzellelemente befinden sich im Wuchern und nehmen das Aussehen von Epitheloidzellen an. In der Umgebung dieser Epithelwucherungen machen sich epithelähnliche Zellen mit reichem Protoplasmakörper und blasenförmigem Kern bemerkbar. In dem neugebildeten Gewebe fehlt es nie an Leukocyteninfiltration. Zwischen den Zonen der Jungformation befindet sich das Gewebe der Lungen in völlig unverändertem Zustand.

Verendeten die Meerschweinchen 12—14 Tage nach der Infektion, so treten die gleichen Erscheinungen, nur stärker betont, auf. Stets ist die Zahl der zum Vorschein kommenden Parasiten so gering, daß sie den Vergleich mit derjenigen, die uns in den Lungen der Versuchstiere unserer ersten Serie begegnete, bei weitem nicht aushält. Höchst selten trifft man sie in den Bronchien und ebenso spärlich im Junggewebe, einige frei, andere als Zelleinschlüsse. Die Proliferation des Epithels, das die Luftröhrenäste umkleidet, ist beträchtlicher, und zwar solchermaßen, daß rings um einzelne Bronchen oft der Schnitt von 7 bis 8 Epithelausbuchtungen zu sehen ist. Die epithelartigen Zellen bilden breite Zonen, hier und da von Riesenzellen unterbrochen. Am neugebildeten Gewebe sind keine Regressivphasen wahrzunehmen.

Wurde das Versuchstier nach 20—26—28—30 Tagen getötet, oder verendete es nach dem 32. — Maximaldauer der Infektion — so erschien die Lunge noch in bedeutend höherem Grade verändert. Die Wucherungen des Bronchialepithels sind in Fig. 3 abgebildet. Die Atypie des proliferierten Epithels ist beträchtlich. Weite Zonen epithelartiger Zellen umgeben seine Auswucherungen und machen selbst im normalen Lungenparenchym Fortschritte. Die Zahl der im jungen Gewebe zerstreuten Riesenzellen ist weit ansehnlicher als bei den vorhergehenden Versuchen. In den ausgedehnteren Bezirken epithelähnlicher Zellen treten auf Degeneration hinweisende Flecke mit Zellkerndetritus auf. Die Epithelwucherung und das Entstehen von Epitheloidzellen begleiten Leukocyteninfiltrationen.

Von den Meerschweinchen, die mit abgeschwächten Kulturen an der Trachea geimpft und dann sich selbst überlassen wurden, kam kein einziges mit dem Leben davon; der Tod trat, wie schon gesagt, spätestens am 32. Tage nach der Infektion ein.

Hefekulturen auf Kartoffeln und im Most brachten, in die Trachea

von Meerschweinchen injiziert, an den Lungen Veränderungen hervor, wie wir sie fast identisch bei den Versuchstieren der ersten Serie gesehen hatten. Die Zahl der Parasiten im Organismus war beträchtlich, die Gewebsreaktion knapp.

Haben wir bei der zweiten Versuchsreihe an Tieren der gleichen Art eine erhöhte Tätigkeit der Gewebe mit Neuformationen wahrgenommen, so ist das ein Verdienst der löslichen Hefenprodukte, die sich bei Züchtung im Glas gebildet und durch das Erhitzen der Kulturen nicht gelitten haben, wie wir sehen werden, wenn das Kaninchenexperiment zur Sprache kommt. Außer diesen auf künstlichem Wege erzeugten löslichen Produkten mögen auch ähnliche Substanzen mitwirken, deren Entstehen der lebende Pilz im Organismus veranlaßt, vielleicht auch die vom Verwittern der Hefen herrührenden Proteine; die Hauptaktion geht jedoch ganz gewiß von den in vitro bereiteten löslichen Produkten aus, die beim Kontakt mit Zellen deren Biochemismus stören und sie zur Proliferation anreizen. Die höchst interessante Frage soll in der Folge eingehender geprüft und zu diesem Zweck ein neuer Cyklus von Impfexperimenten unternommen werden: 1) nur mit den in vitro gebildeten löslichen Produkten, 2) mit den Hefeproteinen, 3) mit den im Organismus zustande gekommenen löslichen Produkten.

### III.

Wie bei den Versuchen an Meerschweinchen, begann auch an Kaninchen das Experiment mit einer Reihe endotrachealer Einspritzungen von Parasiten allein, ohne lösliche Produkte, indem die auf Kartoffeln gezüchteten und mit sterilem Wasser zu Emulsionen verteilten Kulturen zur Verwendung kamen. Statt aber von vornherein das zur Beobachtung des Entwicklungsganges der in verschiedenen Epochen nach der Impfung auftretenden Lungenläsionen dienende Material am getöteten Versuchstier zu sammeln, lag mir daran, zu konstatieren, ob die Kaninchen der pathogenen Wirkung des Parasiten nicht von selbst erliegen. Die Resultate fielen wesentlich anders aus, als bei Meerschweinchen. Wie wir sahen, überlebte kein einziges die Infektion durch *Saccharomyces canis*, während von den geimpften Tieren nur wenige zu Grunde gehen. Von 20 Tieren dieser Gattung, die mit dem bloßen Parasiten in die Trachea geimpft waren, verendeten nur 3, das erste am dritten, die anderen beiden nach 8 Tagen, ohne daß irgendwelche makroskopische Veränderung der Lungen wahrzunehmen war; in den Schnitten kamen kümmerliche Läsionen zum Vorschein. Letztere bestanden aus kleinen hepatisierten Zonen, größtenteils von Lymphocyten, vermischt mit wenigen epithelähnlichen Zellen, herrührend, von geringfügigem Wuchern des Epithels der Bronchen, so daß die Luftröhrenäste sich stellenweise verstopften, und endlich in mäßiger Proliferation der Alveolenzellen, mit entschiedener Neigung, bis in die Bronchialausläufer vorzudringen. Die Parasitenformen waren nur durch seltene Exemplare vertreten.

Das Ergebnis bewog mich, auf diesen Versuchsmodus zu verzichten und dafür eine andere Versuchsreihe vorzunehmen, wobei die Parasiten samt ihren löslichen Produkten, mit anderen Worten die Kulturen direkt als endotracheales Impfmateriel zur Verwendung kommen. So behandelt, gingen die ersten Kaninchen, die nach der Injektion sich selbst überlassen blieben, alle ohne Ausnahme nach 28—30—32—48 Tagen zu Grunde und wiesen an den Lungen, hier und da auch an den übrigen Organen, erhebliche Läsionen auf, weshalb ich

neuerdings an das Studium der fortschreitenden histologischen Veränderung ging und das pathologische Material von Tieren entnahm, die man zu verschiedenen Zeiträumen nach der stattgefundenen Infektion tötete. Die Rolle, welche die löslichen Produkte in der Genesis der Lungenveränderungen spielen, geht aus diesen beiden Versuchsreihen am klarsten hervor. Auch scheinen die bei künstlicher Züchtung vom pathogenen Hefepilz in vitro hervorgebrachten Produkte von denen, die er im Organismus erzeugt, nicht eben stark zu differieren, da die vom Pilz allein an den Lungen hervorgebrachten Veränderungen — ob schon weniger ins Auge fallend — im großen ganzen mit denjenigen identisch sind, die er, gemeinsam mit seinen löslichen Produkten verimpft, in dem Organ erzeugt. Bei dem Versuche, Meerschweinchen gegen die pathogene Wirkung der Sproßhefen zu immunisieren, machte ich vor mehreren Jahren die Beobachtung, daß die Kulturflüssigkeiten dieser Mikroorganismen, durch Chamberlands Filtrierkerze filtriert, selbst in starker Dosis ins subkutane Bindegewebe eingeführt werden konnten, ohne irgendwelchen giftigen Einfluß auszuüben. Nach den oben mitgeteilten Experimenten (und ihren Ergebnissen) tritt heute die Notwendigkeit ans Licht, das sorgfältige und methodische Studium jener löslichen Produkte wieder aufzunehmen, hauptsächlich in Bezug auf den Einfluß, den sie auf die Zellelemente auszuüben im stande sind. Ein Argument, das ich mir nächstes Jahr zu studieren vornehme.

An 14—15—25 Tage nach endotrachealer Injektion getöteten oder nach 46—48 Tagen — Maximum der Infektionsdauer, die man bei dieser Tiergattung wahrnimmt — verendeten Kaninchen zeigte sich als makroskopische Veränderung der Lungen eine, je nach der Dauer des Prozesses mehr oder weniger stark verbreitete Hepatisation von gelblich-weißer Farbe. Oft hatte sie ganze Lungenflügel, namentlich die unteren ergriffen und präsentierte sich auf dem Schnitt als kompaktes gelblich-weißes Gewebe; von gleicher Farbe war die angeschnittene Rinde. Die Hepatisation rührt von epithelartigen Zellen her (Fig. 1), deren Zonen spärliche kleine Hohlräume unterbrechen. Wie bei den Meerschweinchen zeichnen jene Zellen sich auch hier (Fig. 2) durch reichlichen Protoplasmainhalt und großen blasenförmigen Kern aus; hier und da sind die Zellkörper deutlich zu unterscheiden, bald ist wieder keine Abgrenzung wahrnehmbar. Mitten unter den Epitheloidzellen treten mehr oder weniger zahlreiche Riesenzellen von mehr oder weniger großem Umfang auf; auch fehlt es in diesen Flecken oder Agglomeraten epithel-ähnlicher Zellen nie an Leukocyteninfiltration und an Degenerationsphasen. Letztere erscheinen am Zellkörper in Gestalt hyaliner, bald mehr, bald weniger breiter und rundlicher Flecken. In ausgedehnteren Zonen von Epitheloidzellen gibt es Degenerationsstellen der Nekrosisherde mit Zellkerndetritus. Karyokinetische Figuren, normale wie pathologische, sind gewöhnliche Erscheinungen unter den epithelartigen Zellen, wie mitten unter solchen Zonen auch die in Fig. 5 und 6 dargestellten Proliferationen des Epithels auftreten. Das Aussehen der Zellen, denen wir in solchen Junggebilden begegnen, ist von dem Normaltypus, wie er die Luftröhrenäste überkleidet, wesentlich verschieden, da alle diese Wucherungen den regelmäßigen Zellenbau des normalen Bronchialepithels stören. Augenscheinlich geht eine tumultuarische Reproduktion vor sich, indem die Zellen sich nicht regelmäßig eine an die andere reihen, wie dies im Normalzustand und unter dem Impuls zur Röhrenbildung geschieht (Fig. 4).



Vergangenes Jahr ließ Jensen<sup>1)</sup> eine Arbeit erscheinen, die von den Veränderungen im subkutanen Bindegewebe der Meerschweinchen infolge subkutaner Impfung mit *Saccharomyces neoformans* und ihrer Entwicklung handelt und folgendes mitteilt: „Im Verlauf verhältnismäßig weniger Stunden stellt sich eine starke Auswanderung der mehrkernigen weißen Blutkörperchen ein. Diese sammeln sich um die in einem Haufen liegenden Hefezellen und nehmen die Pilze in sich auf. Sobald die Hauptmenge der Hefen in den Zellen aufgenommen ist, steht die Auswanderung still. Schon 8 Stunden nach der Einspritzung hat sie ganz aufgehört. Außer den körnchenfreien vielkernigen Leukocyten sieht man einzelne mit acidophilen Körnern. Der Kern dieser Zellen ist fast immer zweilappig. Sie nehmen nur wenig teil an der Phagocytose und verschwinden bald. Nach dem Verlauf von ungefähr 24 Stunden zeigen sich im anstoßenden Bindegewebe ohne nachweisbaren Zusammenhang mit Blutgefäßen viele einkernige körnchenfreie Wanderzellen, die durch direkte Teilung der Bindegewebszellen zu entstehen scheinen. Sie dringen zwischen die mehrkernigen Phagocyten ein, nehmen, wie diese, Hefezellen ins Innere auf und scheinen an einzelnen Stellen Riesenzellen durch Verschmelzung zu bilden. Solche fanden sich schon am 3. bis 4. Tag. Nach und nach treten, anscheinend durch Umbildung der einkernigen Wanderzellen, Fibroblasten hervor, die teils einen Ring um den Haufen der Hefen bilden, teils diesen in kleinere Abteilungen abgrenzen. Erst am 3. Tage bemerkt man Lebenserscheinungen seitens der Hefen. Sie werden größer, ihre Färbbarkeit verändert sich, viele bekommen eine Kapsel, aus „Kulturhefzellen“ werden sie „Gewebshefen“. Die auf diese Weise veränderten Pilze liegen immer frei im Gewebe einzeln zerstreut. Man sieht auch Knospung, und von jetzt ab vermehren sich die Hefezellen stark und bilden kleine Haufen von Gewebshafen, in der früher beschriebenen Weise von Gewebe der Fibroblasten umgeben. Gleichzeitig vermehren sich diese lebhaft durch indirekte Teilung, und besonders am 5. Tage sieht man eine Menge Kernteilungsfiguren. Außerdem zeigen sich jetzt feine neue Bindegewebsfasern.

Während die eingepflichten Kulturhefen eine heftige akute Entzündung hervorrufen mit starker Auswanderung von Leukocyten, findet man während des späteren lebhaften Wachstums der Gewebshafen keine anatomischen Veränderungen dieser Art.

Man bekommt im ganzen den Eindruck, daß die Gewebshafen für sich mehr mechanisch auf das umgebende Gewebe wirken; sobald die Hauptmenge der eingepflichten Hefezellen von Phagocyten aufgenommen sind, sistiert die Auswanderung und die meisten der späteren Veränderungen lassen sich erklären als Folgen der Vermehrung der Pilze. Es ist doch das Natürlichste, zu vermuten, daß sie außerdem chemisch auf das umgebende Gewebe wirken, obgleich dieses bei der hier benutzten Versuchsanordnung wenig hervortretend ist. Als Giftwirkung könnte man vielleicht die oben besprochene Vakuolisierung der einkernigen Zellen auffassen. Schon am 5. Tage finden sich Hefezellen in den Lymphknoten der Impfstelle am nächsten und später vergrößert sich hier die Menge bedeutend und sie werden von der einen Lymphdrüse bis zur nächsten in der Reihe verpflanzt.

1) Ueber die Entwicklung der durch subkutane Einimpfung von *Saccharomyces neoformans* (Santefice) hervorgerufenen Knötchen. (Zeitschr. f. Hyg. 1904.)

Doch findet sich immer etwas Schwellung der Drüsen, bevor die Hefezellen nachgewiesen werden können.“

Ein ausführliches Referat der Hauptteile dieser Arbeit schien mir um so mehr am Platze, als zwei höchst beachtenswerte Tatsachen daraus hervorgehen: 1) der Ausschluß von Merkmalen eines akuten Entzündungsprozesses bei fortdauernder Proliferation der Zellelemente (worin die Veränderung an der Impfstelle besteht), insofern, als der Verfasser die Aktion der löslichen Hefenprodukte auf die fixen Bindegewebszellen zugibt; 2) das Schwellen der Lymphdrüse in der Umgebung der Impfstelle, bevor die Gegenwart von Parasiten darin nachweisbar ist.

#### IV.

Wir gehen zu der Versuchsreihe über, die an Meerschweinchen vorgenommenes endotracheales Impfen mit Tuberkelbacillen, Rotzbacillen, einigen Streptothrix-Arten, *Aspergillus flavescens* und mehreren Oidien zum Vorwurf hat.

Mit Tuberkulosebacillen geimpft, starben die Tiere nach 10–20–25 Tagen. Sowie der Tod eingetreten, wurden die Lungen unverzüglich fixiert und gehärtet, auf gleiche Weise wie nach trachealer Hefenimpfung an Meerschweinchen verfahren wurde und ebenso fand das Färben der Schnitte nach identischen Regeln statt. Der Unterschied zwischen den von Tuberkulosebacillen und den von Sproßhefen erzeugten Lungenveränderungen besteht darin, daß bei den ersteren die Zerstörungsphase über den Neubildungsprozeß vorwiegt, während bei den anderen der neugebildete Gewebeteil den nekrotischen bei weitem überragt. Das Bronchienepithel ist zweifellos verwuchert, doch nicht in dem Grade, wie wir es bei den an Endotrachealeinimpfung pathogener Hefen gestorbenen Meerschweinchen sahen. Es war wohl ein Zunehmen der Einbuchtungen wahrnehmbar, dagegen fehlten jene zahlreichen Ausbuchtungen, wie ich sie bereits beschrieben habe. Die Epithelzellen sind außerdem nicht systematisch aufgebaut, sondern viele von den Wänden losgetrennt. Die Zonen epithelartiger Formation haben größtenteils im Zentrum ein käsiges Aussehen und es findet sich Zellkern-detritus vor, ein Zeichen von Nekrose. Allerwärts tritt die Genesis der Veränderung klar zu Tage; so sieht man den Gürtel aus epithelartigen Zellen, der jene caseöse Masse umgibt, mit da und dort zerstreuten Riesenzellen besetzt, während es ringsherum von Wanderzellen wimmelt. Was endlich die Infiltration weißer Blutkörperchen betrifft, so findet eine solche bei Meerschweinchen, die von Lungentuberkulose befallen sind, in viel höherem Grade statt als bei der Blastomyceteninfektion.

Einspritzungen des Rotzbacillus und gewisser Streptothricheeen, z. B. *Streptothrix alba* und *Streptothrix violacea*, bringen an den Lungen mit den vorhin beschriebenen nahezu identische Veränderungen hervor. Wie dort, fällt auch hier das Vorwiegen der nekrotischen Phase über die der Neubildung als entschiedene Tatsache auf. Unmittelbar auf das Entstehen einer Zone epithelartiger Zellen folgt die nekrobiotische Erscheinung mit Granulomerzeugung.

Mit Rotzbacillen in die Trachea geimpft, verendeten die Meerschweinchen nach 15–16–19 Tagen, bei Streptothricheeeninjektion nach 25–30–35 Tagen.

Das Einimpfen von *Aspergillus flavescens*-Sporen führt den Tod der Tiere nach 25–27–30 Tagen herbei; doch war hinsichtlich des

Bronchienepithels an den Schnitten nichts zu sehen, wohl aber macht sich diffuse Leukocyteninfiltration des Bindegewebes und das Auftreten peribronchialer Knötchen bemerkbar, bestehend aus epithelartigen Zellen und umspült von Granulomatoseinfiltration.

Was *Oidium*-Arten betrifft, so kamen deren zwei bei endotrachealer Impfung dieser Versuchstiere zur Verwendung und beide hatte man aus dem Zungenbelag normaler Säuglinge isoliert. Einer dieser Pilze war morphologisch wie in kultureller Hinsicht absolut identisch mit *Oidium albicans*. Der Tod der Tiere trat nach 10—12—14—20 Tagen ein. Die eine wie die andere *Oidium*-Species brachte an den Lungen die vorerwähnten Peribronchialknötchen mit denselben Bestandteilen (Epitheloid- und Granulomatosezellen) hervor. In einigen Schnitten der Luftröhrenäste sieht man von der Wandung abgelöste Zellen frei im lichten Raume liegen, auch ist beträchtliche Perivasalinfiltration wahrzunehmen.

Die Unterschiede zwischen den Veränderungen, welche pathogene Hefen einer- und die obengenannten Mikroorganismen andererseits an den Lungen der Meerschweinchen herbeiführen, sind, wie aus dem allem hervorgeht, augenscheinlich.

## V.

Wir haben aus dem bisherigen ersehen, daß die Veränderungen, wie endotracheale Einspritzung von *Saccharomyces canis* an den Lungen von Meerschweinchen und Kaninchen sie hervorbringt, in zwei Erscheinungen bestehen: Bildung von Epitheloidzellen und Ueberwuchern des Epithels, das die Luftröhrenäste überkleidet. Die epitheloiden Zellen sind endothelialen Ursprungs und — wie alle Endothelien, die der serösen Häute nicht ausgeschlossen — als Bindegewebelemente zu betrachten. Daß die Endothelien an der Bildung eigentlicher Tumoren und an der Genesis von Entzündungsprozessen teilnehmen, ist allbekannte Tatsache. Von den Endothelien der serösen Häute und denjenigen der Blut- und Lymphgefäße geht bei allen spezifischen und nichtspezifischen Entzündungen die Bildung von Granulations-, Epitheloid- und Riesenzellen aus.

Sehen wir nun, ob in Fällen akuter und chronischer Entzündung, wo die Endothele beteiligt sind, etwas Aehnliches stattfindet, wie wir es oben in den Lungen von Meerschweinchen und Kaninchen gesehen haben.

(Fortsetzung folgt.)

Nachdruck verboten.

## Eine Dysenterieepidemie in der Provinz Pavia.

- [Aus dem Institut für allgemeine Pathologie der kgl. Universität zu Pavia (Direktor: Prof. C. Golgi).]

Von A. Negri und D. Pane.

Von dem epidemischen Auftreten einer Krankheit, die im vergangenen Monat Juli in einer Gemeinde der Provinz Pavia ausbrach, und die hauptsächlich in Darmerscheinungen (eitrig-blutigen, schmerzhaften, bald nacheinander wiederkehrenden Stuhlgängen) und schweren

Störungen des Allgemeinbefindens bestand, wurden die Verff. veranlaßt, bakteriologische Untersuchungen anzustellen.

Es gelang den Verff., aus den Stuhlgängen von 6 unter 8 Kranken, die zur Untersuchung kamen, einen besonderen typischen Bacillus nachzuweisen.

Der Bacillus ist plump, 1–3  $\mu$  lang, ohne Eigenbewegung, aber mit lebhafter Molekularbewegung, mit den gewöhnlichen Methoden färbbar, Gram negativ.

Er wächst in Bouillon, die er leicht und gleichmäßig trübt, ohne Sediment, üppig auf Agar und Gelatine; auf der letzteren bildet er charakteristische weinblattförmige Kolonien. Traubenzucker, Milchsüßholz und Mannitagar werden nicht vergoren, in Lackmusmolke bildet sich wenig Säure und keine Trübung. Die Milch wird absolut nicht zur Gerinnung gebracht; keine Indolbildung bei den Bouillon- und Peptonwasserkulturen.

Da die morphologischen und kulturellen Merkmale des Bacillus denjenigen ähneln, die für den Bacillus dysenteriae angegeben und allgemein anerkannt sind, wandten die Verff. auch die Agglutinationsprobe mit spezifischem Serum an und dabei bedienten sie sich eines hochwertigen agglutinierenden Eselserums, das sie der Liebesswürdigkeit des Herrn Prof. Kruse verdankten. Agglutinationsproben wurden auch mit Sera von zwei Rekonvaleszenten angestellt.

Das Eselserum agglutinierte die von den verschiedenen Kranken isolierten Bacillen sowie den Bacillus dysenteriae Kruse bis zu 5000-facher Verdünnung.

Das Serum eines Rekonvaleszenten agglutinierte nämlich die isolierten Bacillen bis zu einer Verdünnung von 1 : 400, den Kruseschen zu einer solchen bis 1 : 200. Das Serum eines anderen Kranken agglutinierte die isolierten Bacillen wie den Kruseschen bis zu 1000-facher Verdünnung. Dieselben Rekonvaleszentensera übten keine agglutinierende Wirkung auf Typhus, Paratyphus und Coli aus.

Diese Befunde berechtigen die Verff. zu dem Schlusse, daß die Epidemie eine wahre typische Ruhrepidemie durch Bacillus dysenteriae gewesen ist. Sie halten es für angebracht, ihre Resultate zu veröffentlichen, namentlich aus dem Grunde, weil die beschriebene Epidemie die zweite von den sicher festgestellten Ruhrepidemien in Italien ist seit der Entdeckung des Ruhrbacillus.

Die Veröffentlichung sollte auch dazu beitragen, die Aufmerksamkeit der Behörden auf eine solche ansteckende, manchmal sehr schwere Krankheit zu lenken, damit gegen dieselbe Maßregeln getroffen werden, die schon gegen andere nicht schwerer infektiöse Krankheiten gültig sind, denn die Vermutung liegt nahe, daß die Ruhr in Italien nicht so selten ist, wie man glaubt.

---

legenen Blepharoplasten verfolgen läßt. Der große ovale Kern liegt an der Grenze zwischen mittlerem und hinterem Drittel. Der Habitus des Parasiten war in allen 3 beobachteten Exemplaren derselbe, so daß nicht anzunehmen ist, daß er auf zufälligen Eigentümlichkeiten des Präparates beruht. Die Trypanosomen gleichen in auffallender Weise den von Theiler bei Rindern entdeckten und weichen nur durch die etwas geringere Größe und stärkere Ausbildung der Membran von ihnen ab (vergl. beiliegende Abbildung).

Der negative Ausfall der Impfversuche hat leider ein Studium der pathogenen Eigenschaften nicht ermöglicht. Zu erörtern bliebe demnach nur noch, ob die bei dem Affen gefundenen Trypanosomen wirklich von dem Kranken herstammen oder etwa bereits früher von dem Tiere auf natürliche Weise erworben waren. Wenn nun auch bei dem Kranken selbst Trypanosomen nie gefunden wurden — ich bemerke, daß die mikroskopische Untersuchung größerer Blutmengen und die Punktion der Nackendrüsen aus äußeren Gründen unterlassen wurden — so ist es meines Erachtens doch kaum zu bezweifeln, daß der Kranke an Trypanosomiasis leidet. Die oben angeführten klinischen Symptome stimmen vollkommen mit denen überein, die von den verschiedenen Schlafkrankheitsexpeditionen berichtet worden sind, und die ich später selbst gelegentlich einer Reise nach Uganda habe beobachten können.

Das Auftreten der Trypanosomen im Affenblut 17 Tage nach der Injektion ist weiterhin zum mindesten sehr auffällig. Es kommt hinzu, daß meines Wissens bei Cercopitheken natürlich erworbene Trypanosomen bisher nicht beobachtet worden sind, und daß ich selbst bei 60 Affen der gleichen Art solche trotz lange fortgesetzter, aus anderen Gründen vorgenommener Blutuntersuchungen nicht finden können. Ich halte es daher zum mindesten für sehr wahrscheinlich, daß die Trypanosomen erst durch die Blutinjektion in den Affenkörper hineingelangt sind und daß ihnen mithin menschenpathogene Eigenschaften zukommen. Ist dem so, dann handelt es sich entweder um eine neue Art oder wir haben es mit dem *Trypanosoma Theileri* zu tun. Dem letzteren steht aber entgegen, daß nach Theilers ausgedehnten Untersuchungen sein *Trypanosoma* nur auf Rinder verimpfbar ist.

Auf jeden Fall scheint mir der Befund merkwürdig genug, um eine Veröffentlichung des Falles zu rechtfertigen.

Nachdruck verboten.

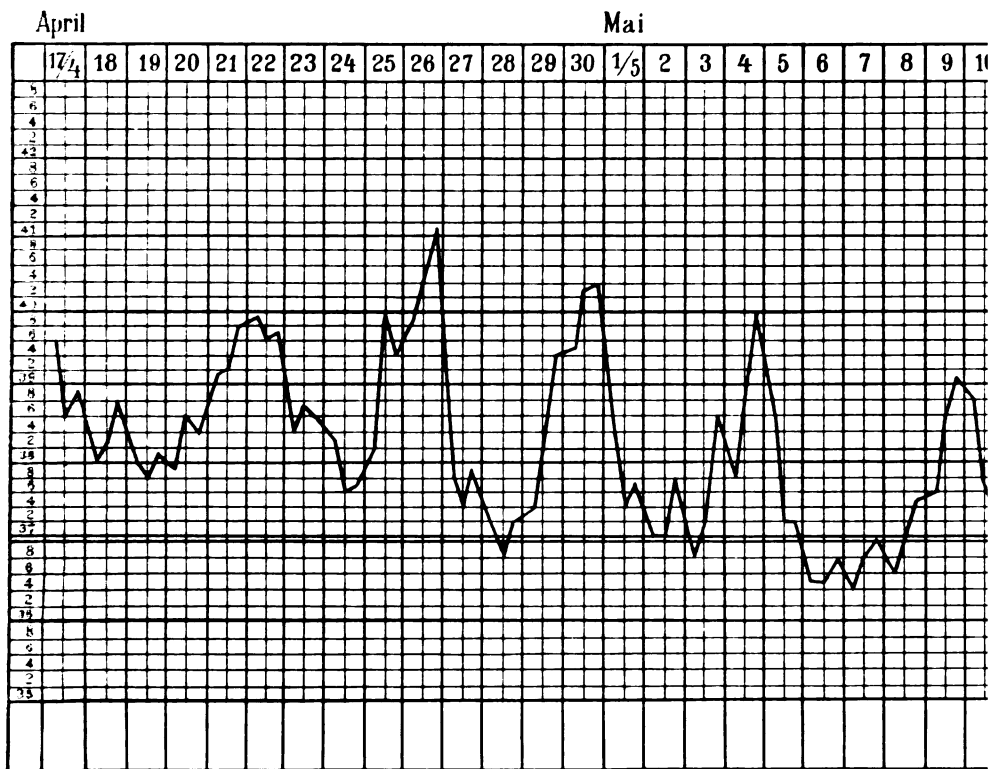
## Weitere Untersuchungen über die Gegenwart der *Spirochaete pallida* in den Schnitten primärer, sekundärer und tertiärer Syphilis.

[Aus dem Hygienischen Institut der Kgl. Universität Turin  
(Direktor: Prof. Dr. L. Pagliani).]

Von Dr. E. Bertarelli und Dr. G. Volpino,  
Privatdozenten der Hygiene.

Mit 1 Tafel.

Wir haben in den letzten Monaten unsere Untersuchungen über syphilitische Manifestationen fortgesetzt und uns dazu der Gewebe-



Kudicke del.

legenen Blepharoplasten verfolgen läßt. Der große ovale K der Grenze zwischen mittlerem und hinterem Drittel. Der Parasiten war in allen 3 beobachteten Exemplaren derselbe, anzunehmen ist, daß er auf zufälligen Eigentümlichkeiten der beruht. Die Trypanosomen gleichen in auffallender Weise Theiler bei Rindern entdeckten und weichen nur durch geringere Größe und stärkere Ausbildung der Membran (vergl. beiliegende Abbildung).

Der negative Ausfall der Impfversuche hat leider ein pathogenen Eigenschaften nicht ermöglicht. Zu erörtern blieb nur noch, ob die bei dem Affen gefundenen Trypanosomen dem Kranken herstammen oder etwa bereits früher von der natürlichen Weise erworben waren. Wenn nun auch bei den selbst Trypanosomen nie gefunden wurden — ich bemerkte mikroskopische Untersuchung größerer Blutmengen und der Nackendrüsen aus äußeren Gründen unterlassen wurde es meines Erachtens doch kaum zu bezweifeln, daß der Trypanosomiasis leidet. Die oben angeführten klinischen stimmen vollkommen mit denen überein, die von den verschiedenen Schlafkrankheitsexpeditionen berichtet worden sind, und die selbst gelegentlich einer Reise nach Uganda habe beobachtet.

Das Auftreten der Trypanosomen im Affenblut 17 Tage nach Injektion ist weiterhin zum mindesten sehr auffällig. Es kommt mir, daß meines Wissens bei Cercopitheken natürlich erworbene Trypanosomen bisher nicht beobachtet worden sind, und daß ich selbst bei der gleichen Art solche trotz lange fortgesetzter, aus anderen vorgenommenen Blutuntersuchungen nicht habe finden können. Ich halte es daher zum mindesten für sehr wahrscheinlich, daß die Trypanosomen erst durch die Blutinjektion in den Affenkörper hineingekommen sind und daß ihnen mithin menschenpathogene Eigenschaften haben. Ist dem so, dann handelt es sich entweder um eine neue Art, oder man hat es mit dem *Trypanosoma Theileri* zu tun. Dem letzteren steht aber entgegen, daß nach Theilers ausgedehnten Untersuchungen *Trypanosoma* nur auf Rinder verimpfbar ist.

Auf jeden Fall scheint mir der Befund merkwürdig genug, um die Veröffentlichung des Falles zu rechtfertigen.

Nachdruck

## Weitere Untersuchungen über die Gegenwart von *Spirochaete pallida* in den Schnitten primärer, sekundärer und tertiärer Syphilis.

[Aus dem Hygienischen Institut der Kgl. Universität Turin  
(Direktor: Prof. Dr. L. Pagliani).]

Von Dr. E. Bertarelli und Dr. G. Volpino,  
Privatdozenten der Hygiene.

Mit 1 Tafel.

Wir haben in den letzten Monaten unsere Untersuchungen über syphilitische Manifestationen fortgesetzt und uns dazu entschlossen, die Ergebnisse in dieser Form zu veröffentlichen.







imprägnation mit Silbernitrat bedient, ein Verfahren, das einer von uns bei unseren früheren Untersuchungen über die Gegenwart der Spirochäten in den Schnitten syphilitischer Organe mit Erfolg angewandt hat, und das von uns in dem Centralbl. f. Bakt. etc. mitgeteilt worden war.

Diese Methode hat Levaditi einer Prüfung unterzogen und dann eine nicht bedeutende Modifizierung derselben vorgeschlagen. Mit Hilfe besagter Methode ist es diesem Forscher gelungen, viele interessante Angaben zu machen über die Lokalisation der Spirochäten in den primären und sekundären Manifestationen bei Menschen und Affen.

Schon seit einiger Zeit (wie dies in dem im Centralbl. f. Bakt. etc. veröffentlichten Berichte bemerkt ist) haben wir es bequemer gefunden, die kleinen Gewebe- und Organstücke in Silbernitrat zu imprägnieren, anstatt die Schnitte damit zu behandeln. Zahlreiche Nachprüfungen, zu denen wir auch das von Levaditi abgeänderte Verfahren heranzogen, haben uns dargetan, daß die besten Resultate (besonders was Haut und Schleimhaut anbetrifft) auf nachstehende Weise erhalten werden:

1) Fixation der sehr kleinen Stücke in Alkohol. Die Stücke dürfen 0,6–0,7 mm nicht überschreiten, wenn man will, daß die Imprägnation gleichmäßig vor sich gehe.

2) 3–4-tägiger (besser 4-tägiger) Verbleib der Stücke in einem Bade aus Silbernitrat, Wasser, Alkohol und Essigsäure (Silbernitrat 1,5 g, destilliertes Wasser 50 ccm, Alkohol 96° 50 ccm, reine Essigsäure 4–5 Tropfen). Die Flüssigkeit muß erneuert werden, sobald sich Niederschlag bildet.

3) Mehrfaches sorgsames Auswaschen in destilliertem Wasser.

4) 24-stündiger Verbleib auf Zimmertemperatur im Reduktor Van Ermengens (Tannin 3 g, Gallussäure 5 g, essigsaures Natrium 10 g, destilliertes Wasser 350 g). Erforderlichenfalls wechselt man den Reduktor, wenn dieser trübe wird.

5) Sorgsames Auswaschen in destilliertem Wasser.

6) Alkohol, Chloroform, Paraffin, Schnitte von 0,3–0,7  $\mu$ .

Schon aus der gelben Farbe der Schnitte läßt sich leicht ersehen, ob die Imprägnation und die darauf folgende Reduktion gut ausgefallen sind. Geht man mit Vorsicht vor, dann ist ein schlechtes Gelingen ziemlich selten.

Der Zusatz der Essigsäure zum Nitrat hat den Zweck, das Stück leicht zu erweichen, was besonders bei der Haut zum Erhalt hinreichend feiner Schnitte von Wichtigkeit ist.

Levaditi hat ferner angeraten, den Grund nach Giemsa zu färben. Doch ist dies unseres Erachtens angesichts der schönen gelben Abtönung, die der Schnitt annimmt, nicht nötig, um so mehr als die Färbung des Grundes das deutliche Auftreten der schwarzen Spirochäten auf goldgelbem Grunde beeinträchtigt<sup>1)</sup>.

Wir haben in dieser Richtung andere Versuche vorgenommen, indem wir den Grund mit einer 1-proz. Goldchlorürlösung entfärbten, dann im Wasser wuschen und mit Alaunkarmin neuerdings färbten, sowie mit Hämatoxylin-Orange. Im allgemeinen halten wir es jedoch für vorteilhafter, besonders für das Studium der Beziehungen zwischen Spirochäte und Gewebe, auf die Färbung des Grundes und des Kernes

<sup>1)</sup> In der Tat hat einer von uns (Bertarelli) die Levaditischen Präparate beobachtet und konnte feststellen, daß bei diesen die Färbung des Grundes sehr anschaulich ist.

zu verzichten und sich mit der gelben Abtönung zu begnügen, die mit genannter Methode sofort erhalten wird.

Unsere Untersuchungen betrafen einige primäre, sekundäre und tertiäre Manifestationen beim Menschen.

**Primäre Manifestationen.** Wir haben 3 Initialsyphilome untersucht. Das erste entstammte der Haut des Penis und war mehr als 20 Tage alt; das zweite, vom Penisrücken, war fast sofort nach Auftreten abgetragen worden, ehe noch irgendwelche Kur vorgenommen worden war; das 3. Syphilom ist 2 Monate alt und besteht in einem talergroßen, sklerosiertem Geschwür, das einen guten Teil der Vorhaut einnimmt.

Bei dem Syphilom No. 1 war es uns nicht möglich, Spirochäten vorzufinden. Das Syphilom war jedoch auf dem Wege der Rückbildung und der Kranke hatte bereits die Quecksilberkur begonnen.

Das zweite dieser Syphilome (vom Rücken des Penis) war wenige Tage nach Auftreten des harten Schankers abgetragen worden.

Spirochäten fanden sich in ihm in bedeutender Anzahl in der ganzen von der primären Läsion eingenommenen Zone vor.

Sie waren deutlich untereinander verschieden. Man erkennt deren mit 14—16—20 und mehr Windungen. Einige Formen erscheinen sehr lang und legen den Gedanken an die Vereinigung von 2 Spirochäten nahe. Einige derselben laufen deutlich in einen kleinen Kopf aus, der bei starker Vergrößerung wie ein runder Endteil aussieht und gleichmäßig schwarz gefärbt ist. Zuweilen bilden die Spirochäten kleine, aus zwei oder mehr unter sich verschieden gruppierten Elementen zusammengesetzte Streifen.

Die Spirochäten finden sich in allen Granulationsgeweben. Man sieht deren zwischen den Bindegewebsbüscheln, ganz nahe bei den Drüsen, um die Gefäße herum, zwischen den glatten Muskelfasern und in den Lymphräumen.

Zwischen den Bindegewebsbüscheln und den Muskelfasern nimmt man häufig sehr lange Exemplare wahr, die meist parallel zur Richtung des Büschels liegen.

Ziemlich zahlreich finden sie sich auch in den Lymphräumen, und in den Lymphspalten sieht man nur selten weniger als 2—3 Spirochäten. Ebenso trifft man sie ziemlich zahlreich um die Blutgefäße herum an. In einigen Fällen erscheinen sie sogar im Blutgefäßlumen.

Ihre Größe schwankt stark. Es finden sich da solche mit 12—16—20 und zuweilen auch noch mehr Windungen. Häufig liegen sie gekrümmt, zuweilen auch gerade, alle aber haben ein konstantes, typisches Aussehen. Nicht selten weisen sie am Ende eine leichte kopfartige Blähung auf.

Das 3. Syphilom war ein harter Schanker der Vorhaut, der mehr als 2 Monate alt war. Die ganze betroffene Zone, die größer war als ein Talerstück, war sklerosiert und schnittresistent.

In den Schnitten aller Stücke finden sich zahlreiche Spirochäten vor, zwischen dem Bindegewebe, in der Nähe der Gefäße und in den Lymphspalten. In spärlicherer Quantität zeigten sie sich den Rändern der Verletzung zu und fehlten ganz in der Nähe der Zone der gesunden Haut. Ihre Lokalisation, Gruppierung und Form erinnern an das, was bereits bezüglich des 2. Syphiloms gesagt wurde.

Im übrigen waren sie in der ganzen Zone stark verbreitet, mehr aber immerhin in der Tiefe als an der Oberfläche.

**Sekundäre Manifestationen.** Wir konnten zwei Schleimhautpapeln verwenden; die eine kam aus der perianalen Gegend, die zweite aus der großen Lippe einer Prostituierten.

Die Präparate der ersten Pape sind außerordentlich veranschauend. Die Spirochäten lassen sich da in der ganzen Zone in ungewöhnlicher Anzahl erblicken bis zur gesunden Haut hin. Spärlich nur finden sie sich in den Oberflächenschichten, überaus zahlreich in den mittleren und tieferen Teilen der Malpighischen Schicht, wo sie fast ein Netz bilden.

Die Spirochäten werden nicht nur in den tiefen Zonen der granulösen Schicht angetroffen (wo sie viel massenhafter vorkommen als in den Oberflächenschichten), sondern finden sich auch noch in der Lederhaut in bedeutender Anzahl und dringen bis zum subkutanen Bindegewebe vor. An verschiedenen Stellen bilden sie ein wahres Spirochätenstroma.

Auch ihre Lokalisation ist sehr interessant. Man nimmt deren in der granulösen Schicht, um die Zellen herum und in den Zellen wahr. An einigen Stellen der Präparate ist die endocelluläre Disposition der Spirochäten unzweifelhaft. Sie werden gewöhnlich gekrümmt im Zellprotoplasma beobachtet. Zuweilen auch liegen sie um die Zellen herum, und sieht es fast so aus, als ob sie dieselben streckenweise umarmten, oft auch liegen sie in den interstitiellen Räumen der Zellen der granulösen Schicht und sind da in verschiedener Weise untereinander verschlungen.

Ihre Quantität ist an einigen Stellen überaus groß. Gegen die Peripherie zu werden sie spärlich und geradezu selten in den Oberflächenschichten der Epidermis. Der Totaleindruck, den die Präparate machen, ist der einer aus dem Innern kommenden Invasion, deren Lauf den Oberflächenzonen der granulösen Schicht zu immer mehr gehemmt wird.

Außer in der granulösen Schicht, wo die Formen, wie bereits gesagt, gelagert sind, finden sich diese Spirochäten mit besonderer Vorliebe auch um die Blutgefäße herum.

Zuweilen sind die Spirochäten um die kleinen Blutgefäße herum fast ringförmig gelagert, und zwar meistens an ihrer Peripherie, doch sieht man auch welche in der Dicke der Wand und nicht wenige senkrecht zur Richtung der Gefäßwand.

Im Lumen der Gefäße finden sich die Spirochäten nur in kleiner Anzahl, ebenso in den Kapillaren.

Ziemlich stark vertreten sind sie dann in den Lymphspalten, einige finden sich auch in den Drüsen, und zwar sowohl in der Dicke des Drüsengewebes, wie auch in den peripherischen Scheiden.

Hierbei stößt man auch auf sehr lange Formen, die nicht selten mehr als 80 Windungen besitzen, mit einem angeschwollenen Teile, der wahrscheinlich den Verknüpfungspunkt zweier Spirochäten darstellt. Häufig sehen die äußersten Enden oder das äußerste Ende dieser Spirochäten wie schwarze Kügelchen aus und sind im mikroskopischen Feld deutlich sichtbar. Beobachtet man dann diese Kügelchen bei starker Vergrößerung (apochrom. 2 Mill. Komp.-Okul. 12), so wird man gewahr, daß sie nicht ein homogenes Ganzes bilden, sondern zuweilen auch einen weniger schwarz gefärbten Zentralteil wahrnehmen lassen.

Zuweilen ist die Spirochäte teilweise gegen sich selbst zurückgebogen, und zwar derart, daß sie geradezu einen Kreis bildet, mit einem Schweife,

der dadurch entsteht, daß sich ein freies Ende an den Körper anheftet. Diese Vorgänge sind dann durchaus nicht zufällig. Und ebensowenig scheinen diese Spirochäten einfach kreisförmig gebogen zu sein; im Gegenteil scheint eines der freien Enden sich zuweilen an einem gewissen Punkt der Spirochäte festzulegen und mit ihr selbst einen Körper zu bilden.

In den Zellen der granulösen Schicht sieht man zuweilen noch rundliche Körperchen mit einem unter  $1\ \mu$  liegenden oder dieses Maß kaum erreichenden Diameter in mehr oder weniger dunklem Schwarz, Kernchen, die nicht aus einfachen Niederschlägen bestehen, und sich übrigens niemals in Schnitten der gesunden Haut oder in spitzen, in Silbernitrat imprägnierten Kondylomen vorfinden.

In der zweiten Papel (aus der großen Schamlippe einer syphilitischen Prostituierten) ist das Bild nicht sehr verschieden.

Die Spirochäten sind stärker lokalisiert, aber außerordentlich zahlreich. Auch hier häufen sie sich besonders in dem an die granulöse Schicht angrenzenden Teil an, an den anderen Stellen sind sie spärlich. Sehr lange Exemplare finden sich in dem Geschwürsexsudat, besonders in seinen Einbuchtungen und ebenso in einigen Spalten, die man in der Malpighischen Schicht wahrnimmt.

Im übrigen stießen wir hier auf dieselben Lokalisationen und dieselben morphologischen Vorgänge, die bereits gelegentlich der ersten Papel erwähnt worden sind.

**Tertiäre Manifestationen.** Wir hatten Gelegenheit, das Aufsuchen der Spirochäten in einem Gumma der Leber, in einer tertiären Verletzung eines seit langer Zeit aufbewahrten großen Arteriengefäßes, in der Leber eines laut Diagnose an syphilitischer Nephritis (die Nierenstücke waren in Formalin konserviert) leidenden Kranken und in ganz frischen syphilitischen Läsionen (Lebergumma, Sklerosis der Milz und der Niere) eines im November 1905 verstorbenen Herzkranken betreiben zu können.

Niemals haben wir da weder in den sklerosierten Zonen noch in ihrer Nähe Spirochäten feststellen können. Bezüglich der tertiären Läsionen konnte man nun leicht auf den Gedanken kommen, daß besondere Stadien der Spirochäte existieren, in denen die typische Form gründlich verändert ist. Leider aber gestattet es der morphologische Befund noch nicht, von deutlich unterschiedenen Formen zu sprechen, denen eine gewisse Bedeutung beigemessen werden könnte.

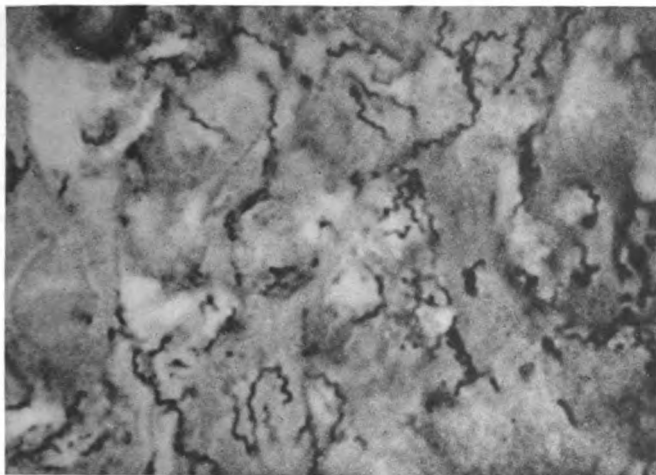
Allerdings kann man kleine runde, bald schwarze, bald gelbe Körperchen wahrnehmen, die in einigen Fällen sich konstant in den Lymphspalten oder innerhalb der Zellen vorfinden. Angesichts der Methode aber und der Leichtigkeit, mit der, wenn auch nicht gleiche, so doch sehr ähnliche Kernchen in den gesunden Geweben vorgefunden werden, bleibt es vorderhand unmöglich, zu entscheiden, ob derartigen Körperchen der Wert von Ruheformen der Spirochäten gegeben werden kann.

#### **Tafelerklärung.**

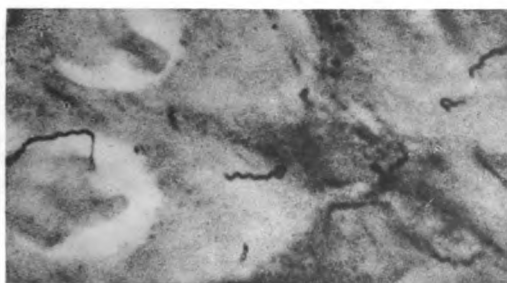
Die Photographien betreffen die Präparate einer Schleimhautpapel. Zeiss apochrom. 2 mm Komp.-Okul. 12. Die vergrößerten Photographien 2500 Diameter.

Fig. 1 und 2. Spirochäten in den tiefen Teilen der Malpighischen Schicht.

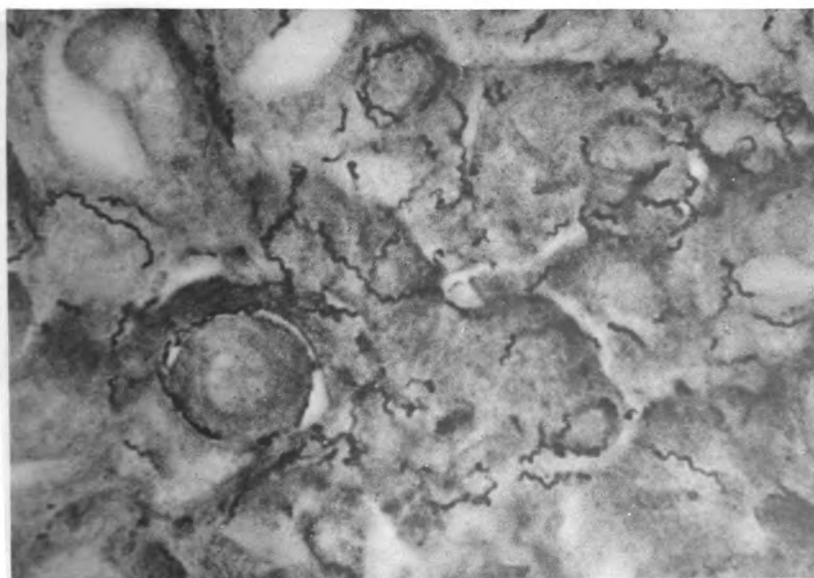
Fig. 3. Spirochäte mit deutlicher Endschwellung.



**Fig. 1.**



**Fig. 3.**



**Fig. 2.**



Nachdruck verboten.

## Die Tänien der Raubvögel

Von Dr. O. Fuhrmann, Académie Neuchâtel.

Mit 32 Figuren.

Wir kennen von den Tagraubvögeln bis jetzt nur 6, von den Nachtraubvögeln nur eine sichere Tänienart. Durch die nachfolgend beschriebenen neuen Species wird ihr Zahl mehr als verdoppelt. Das Material zu dieser Untersuchung stammt, mit Ausnahme einer Art, aus der so reichen Sammlung des Museums in Wien und wurde mir in zuvorkommender Weise von Herrn Prof. E. v. Marenzeller zur Bearbeitung überlassen. In den zahlreichen helminthologischen Sammlungen großer Museen, welche ich zu bestimmten Gelegenheit hatte, fanden sich immer nur wenige Raubvogelcestoden, was wohl darauf hinweist, daß diese Vögel selten der Wohnsitz von Cestoden sind.

Es sind als bis jetzt bekannte sichere Arten zu nennen: *Taenia globifera* Batsch, *Mesocestoides perlatus* Goeze, *Idiogenes mastigophora* Krabbe, *Anomotaenia mollis* Volz, *Davainea sphaeroïdes* Clerc. und *Taenia* spec. Volz.

Volz<sup>1)</sup> hat in seiner Zusammenstellung als sehr mangelhaft bekannte Arten erwähnt: *T. Chrysaëti* Viborg (aus *Aquila chrysaëtos*), *T. crenulata* Schultze (aus *Circus cyaneus*), *T. tenuis* Creplin (aus dem Röthelfalken) und *T. viator* Leidy (aus *Nauclerus furcatus*).

Die erste und letztgenannte Art besitzen keine Beschreibung; letztere ist vielleicht identisch mit der aus demselben Vogel stammenden, von mir nachfolgend untersuchten *Oligorchis strangulata* Fuhrm. Die zweite Art soll synonym sein zu *T. globifera*, während die an dritter Stelle genannte Species vielleicht identisch ist mit *Mes. perlatus*.

Clerc<sup>2)</sup> hat nachgewiesen, daß die *T. armigera* Volz nur eine Varietät von *T. globifera* Batsch ist.

Nach Volz ist *Idiogenes mastigophora* Krabbe wohl identisch mit *T. flagellum* Goeze; so dies nachgewiesen wird, d. h. wenn bei *Idiogenes mastigophora* ein Skolex gefunden wird, hat die Goezesche Bezeichnung der Art zu gelten.

Von der von O. v. Linstow beschriebenen, 1,3 mm langen, geschlechtslosen *T. leptodera* aus *Astur nisus* glaubt Volz, daß, wie aus den Haken zu schließen, dieselbe wohl identisch ist mit *Hymenolepis fringillarum* aus *Passer domesticus*. Wolffhügel fand im Magen von *Accipiter nisus*, *Dilepis undulata* und *Distomum longicauda* (aus *Corvus*). Meine Untersuchung des Originalmaterials von *T. filum* var. *polybori* Lönnerberg (aus *Polyborus thorus*) haben ergeben, daß dieselbe nichts anderes ist als *Aploparaksis filum* Goeze, wohl aus einem gefressenen *Charadriiformes* stammend. Ebenso hat die Untersuchung des Originalmaterials von *Tetrabothrius junceus* Baird mir gezeigt, daß dieselbe so große Aehnlichkeit mit *Tetrabothrius macrocephalus*<sup>3)</sup> hat, daß erstere

1) Volz, W., Beitrag zur Kenntnis einiger Vogelestoden. (Arch. f. Naturgesch. 1900.)

2) Clerc, W., Contribution à l'étude de la faune helminthologie de l'Oural. (Revue suisse de zoologie. T. II. 1903. p. 347.)

3) Fuhrmann, O., Das Genus Prosthecocotyle. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXV. 1899.)



Art nicht mehr aufrecht erhalten werden kann und daß dieselbe wohl durch das Verspeisen eines *Podiceps* oder *Colymbus* in den Magen von *Sarcoramphus papa* gelangt ist.

Uebrigens sind *T. leptodera* Linstow, *T. filum* var. *polyborus* Lönnberg und *Tetrabothrius junceus* Baird nur je einmal gefunden worden.

Aus Nachtraubvögeln ist außer *Parautrina candelabraria* Goeze nur noch die ganz mangelhaft bekannte *T. strigis acadicae* Leidy bekannt, welche vielleicht mit *Parautrina angustata* Fuhrmann identisch ist.

Aus unseren Untersuchungen geht zunächst hervor, entgegen manchen Angaben in Sammlungen, die kontrolliert wurden, daß die Raubvögel Amerikas eine ganz besondere Tänienfauna beherbergen, indem keine der aus eur-asiatisch-afrikanischen Raubvögeln bekannten Tänien in amerikanischen Repräsentanten derselben Gruppe, und umgekehrt, gefunden wurden.

Nach der sehr großen Zahl untersuchter Raubvögel unseres Kontinentes sind denselben eigen: *T. globifera* Batsch, *Mesocetoides perlatus* Goeze, *Idiogenes mastigophora* Krabbe, *Davainea sphaeroides* Clerc und *Paruterina candelabraria* Goeze.

*Davainea (Chapmania) longicirrhosa* Fuhrmann, *Anomotaenia mollis* Volz, *Taenia heteracantha* Fuhrmann, *Dipylidium avicola* Fuhrmann bewohnen eurasiatisch-afrikanische Raubvögel.

In Amerika und speziell in Südamerika kommen keine der oben genannten Arten vor und fanden wir an deren Stelle folgende von dem verdienten Forscher Natterer gesammelte sehr charakteristische Formen: *Culcitella rapacicola* Fuhrmann, *Culcitella crassa* Fuhrmann, *Laterotaenia natteri* Fuhrmann, *Anomotaenia trapezoides* Fuhrmann, *Dilepis oligorchida* Fuhrmann, *Oligorchis strangulatus* Fuhrmann und *Paruterina angustata* Fuhrmann.

Bemerkenswert ist des ferneren, daß Tag- und Nachtraubvögel, obwohl sie in sehr vielen Fällen ganz dieselbe Nahrung haben, von ganz verschiedenen Tänien bewohnt sind. Bei der einen Gruppe kennen wir 15 Arten, bei der anderen deren nur 2. Die letzteren gehören demselben Genus an, dessen Vertreter übrigens nur in Nachtraubvögeln hausen.

Diese vollständige Verschiedenheit in der Parasitenfauna stimmt überein mit der systematischen Trennung der Raubvögel, von welchen man die Tagraubvögel in die *Ciconiiformes*, die Nachtraubvögel in die *Coraciformes* stellt. Dazu kommt noch, daß die beiden Arten des Genus *Paruterina* der *Striges* eine gewisse Verwandtschaft in Bewaffnung und Anatomie zeigen mit den Tänien des Genus *Biuterina*, das in obiger Vogelgruppe speziell bei den *Meropes* mehrere Vertreter hat. So würde also — ähnliche Beispiele haben sich aus unseren helminthologischen Untersuchungen noch mehrere ergeben — die neuere systematische Trennung und Stellung der Raubvögel in ihrer getrennten Parasitenfauna (trotz sehr ähnlicher Ernährungsweise) eine Bestätigung finden.

Betrachten wir nun noch die Cestoden dieser Vogelgruppe im Vergleich mit der Tänienfauna der anderen Vögel, so wird uns auffallen, daß in derselben so manches für dieselbe charakteristische Genus zu finden ist. Es sind dies folgende Genera: *Paruterina*, *Culcitella*, *Laterotaenia*, *Oligorchis*. Andererseits treffen wir Repräsentanten der Genera *Mesocetoides*, *Dipylidium* und *Taenia*, welche sonst in Säugetieren hausen und die, soweit bis jetzt zu beurteilen, durch besondere Arten repräsentiert sind, welche nicht etwa aus Nahrungstieren zu stammen scheinen;

dies gilt namentlich sicher für die verbreitete *Mesocetoides perlata* und *Taenia globifera*<sup>1)</sup>.

Die übrigen Genera finden wir bei einer oder mehreren Vogelgruppen vertreten. Es sind dies: *Dilepis* (bei *Ciconiiformes*, *Passeriformes* und *Charadriiformes*), *Anomotaenia* (bei *Ciconiiformes*, *Charadriiformes*, *Ralliformes*, *Passeriformes*, *Apterygiformes*), *Idiogenes* (bei *Charadriiformes*), *Davainea* (in allen Vogelgruppen und bei Säugetieren), *Chapmania* (*Rheiformes*, *Charadriiformes*).

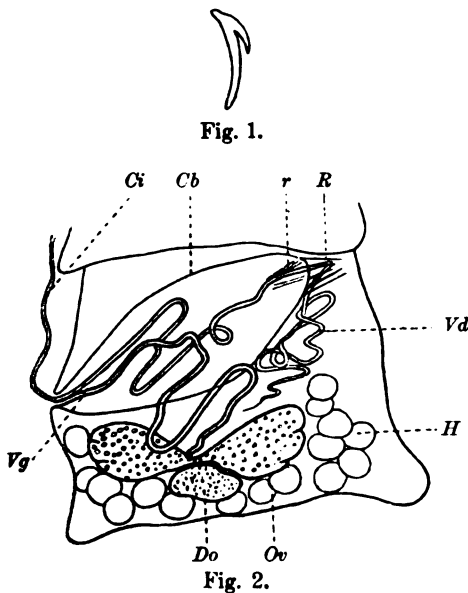
***Davainea (Chapmania) longicirrhosa* n. sp.**

Fig. 1—3.

Wirt: *Milvus korschun* (Gm.).

Geographische Verbreitung: Zentral- und Südeuropa, Zentralasien, Afrika, Madagaskar.

Fundort: Afrika. Hofmuseum in Wien, Glas No. 340.



- Fig. 1. *Davainea (Chapmania) longicirrhosa* n. sp. Haken des Rostellums.  
 Fig. 2. *Davainea (Chapmania) longicirrhosa* n. sp. Totalpräparat einer Proglottis.  
 Ci Cirrus, Cb Cirrusbeutel, r Retraktor des Cirrus, R Retraktor des Cirrusbeutels, Vd Vas deferens, H Hoden, Vg Vagina, Ov Ovarium, Do Dotterstock.  
 Fig. 3. *Davainea (Chapmania) longicirrhosa* n. sp. Reife Proglottis. K Kalkkörperchen, P Parenchymorgan, U Uterus; übrige Bezeichnungen siehe Fig. 2.

Aus Raubvögeln ist bis jetzt nur eine Art des Genus *Davainea* (*D. sphaeroides* Clerc) bekannt; die hier zu beschreibende Form gehört in ein besonderes Subgenus, das am Schlusse näher definiert werden wird.

Das mir zur Verfügung stehende Material ist leider ziemlich stark maceriert und stark gestreckt. Die Strobila erreicht wohl eine Länge von ca. 2 cm bei einer Breite von 0,4 mm. Die Glieder sind infolge der starken

1) Von den oben genannten Genera sind bei anderen, nicht fleischfressenden Vögeln noch bekannt: *Mesocetoides alaudae* Stoss., *Dipylidium columbae* Fuhrmann und *Taenia brachysoma* Setti (aus *Anas*).

Streckung meist länger als breit, doch scheint dies für die jüngeren Glieder nicht normal zu sein, die eher etwas breiter als lang sind, hingegen sind die reifen Glieder länger als breit. Der Skolex ist ein typischer *Davainea*-Skolex mit einem Durchmesser von 0,1 mm und einem Rostellum, dessen Diameter 0,05 mm ist und das von einer doppelten Krone von ca. 150 (?) 0,01 mm langen Haken bewaffnet ist, deren Form der der anderen Vertreter des Genus *Davainea* sehr ähnlich ist.

Ueber Muskulatur, Exkretionssystem und Nervensystem der Strobila kann ich wegen des mangelhaften Erhaltungszustandes nichts aussagen.

Sehr deutlich und klar waren aber die Geschlechtsorgane dieses interessanten Cestoden zu sehen.

Die Genitalkloake der einseitig ausmündenden Geschlechtsorgane liegt ungefähr in der Mitte des Seitenrandes der Glieder.

In sie mündet zunächst der voluminöse Cirrusbeutel, dessen Länge der Breite der Strobila gleichkommt oder dieselbe übertrifft. Derselbe (0,24 mm lang in einer Proglottis, die 0,23 mm breit) zieht vom Genitalporus schief nach der vorderen gegenüberliegenden Ecke des Gliedes. Er ist keulenförmig, schwach muskulös und besitzt einen kurzen Retraktor, der sich in der dem Genitalporus gegenüberliegenden vorderen Ecke der Proglottis fixiert. Der Cirrus kann, bei Proglottiden, die 0,2 mm lang, bis auf eine Länge von 0,8 mm ausgestülpt werden; er ist bedeckt von feinen Härchen und wird von einem besonderen Retraktor zurückgezogen. Das Vas deferens ist stark gewunden und zieht zu den hinter und neben dem Ovarium gelegenen Hoden. Es finden sich etwa 10—12 Hoden in jedem Gliede.

Die weiblichen Geschlechtsorgane bestehen aus einem kleinen, leicht gelappten, zweiflügeligen Ovarium (0,12 mm breit), dahinter liegt ein kleiner Dotterstock, über ihm ein ebenso großes Receptaculum seminis. Von ihm aus sieht man die sehr lange Vagina in mehreren Windungen nach der Genitalkloake ziehen. Das Endteil der Vagina ist wie der Cirrus von feinen Härchen ausgekleidet.

Der Uterus ist sackförmig und vor ihm liegt eine eigentümlich struierte, scharf umgrenzte Parenchymmasse, die in ihrem vorderen Teil von einer sehr großen Zahl dichtgedrängter Kalkkörperchen umhüllt ist. Solche präuterine Parenchymorgane finden wir auch bei anderen Vogelcestodengenera, wie *Anonchotaenia* Cohn, *Metroliaesthes* Ransom, *Biuterina* Fuhrmann aber auch bei *Davainea tauricollis* Chapm., mit welchen die eben beschriebene Art nächste Verwandtschaft zeigt. Bei *Dav. tauricollis* konnte ich nachweisen, daß bei ganz reifen abgelösten Proglottiden die Eier, welche sich aus dem Uterus im Parenchym zerstreut in das oben genannte Parenchymgebilde einwandern, das dann zu einer Art Uteruskapsel wird. Ob bei *Dav. longicirrhosa* die Eier ebenfalls zunächst ins Parenchym und dann in das Parenchymgebilde wandern, konnte ich aus Mangel an ganz reifen losgelösten Gliedern nicht untersuchen. Es ist aber wohl sicher, daß die beiden Arten *Dav. tauricollis* Chapm. und *Dav. longicirrhosa* mihi zusammen in eine besondere Untergruppe der Davainäen gehören. Für *Dav. tauricollis* Chapm. (= *T. argentina* Zschokke) wurde von Monticelli<sup>1)</sup> (und nicht von mir, wie Cohn<sup>2)</sup>

1) Monticelli, Fr. S., Intorno ad alcuni elminti del Museo Zoologico della R. Univ. di Palermo. (Naturalista Siciliano Anno XII. Palermo 1893.)

2) Cohn, L., Zur Anatomie und Systematik der Vogelcestoden. (Nova Acta. Bd. LXXIX. p. 420.)

fälschlich angibt) das Genus *Chapmania* geschaffen. Durch Studium des Originalmaterials von *T. argentina* konnte ich nachweisen, daß dieselbe eine typische *Davainea* ist. Anderes Material zeigte mir dann, daß das eigentümliche Parenchymorgan zur Uteruskapsel wird und auf Grund dieser Beobachtung schuf ich das Subgenus *Capsodavainea*<sup>1)</sup>. Eigentlich sollte aber der als Synonym des Genus *Davainea* eingezogene Genusname *Chapmania* Monticelli, dessen Typus eben *T. tauricollis* Chapm. zur Benennung des Subgenus herbeigezogen werden. Es fällt also der Name *Capsodavainea* als synonym zu *Chapmania* dahin. Die Diagnose des Subgenus ist eine sehr einfache, sie lautet: Tänien mit der Bewaffnung und Organisation der Davaineen; bei welchen sich aber die Eier, statt im Parenchym zu zerstreuen, in ganz reifen losgelösten Proglottiden in einem parenchymatösen Parauterinorgan, das zu einer Uteruskapsel wird, vereinigen.

***Culcitella rapacicola* n. g. n. sp.**

Fig. 4—8.

Wirt: *Ictinia palumbea* Gm., *Geranospizias caerulescens* Vieill., *Asturina nitida* Lath.

Geographische Verbreitung: Mexiko bis Brasilien.

Fundort: Brasilien. Hofmuseum in Wien, Glas No. 134, 481 und 478.

Dieser Cestode ist der Typus eines besonderen Genus, des bei süd-amerikanischen Raubvögeln nicht selten zu sein scheint. Die Exemplare sind 2 mm breit und etwa 8 cm lang. Die aus *Geranospizias* stammenden Fragmente dagegen nur 1 mm breit.

Der Skolex ist 0,16—0,18 mm breit und zeigt Saugnäpfe, deren Durchmesser der Hälfte der Breite des Kopfes entspricht. Das Rostellum ist eine rüsselartige Verlängerung des Skolex, an dessen vorderem Ende man einen kleinen Muskelbulbus bemerkt, der 0,036 mm im Durchmesser mißt. Die Haken waren leider nirgends erhalten.

Die innere Anatomie dieses Wurmes wird hauptsächlich auf Grund der Untersuchung der ans *Ictinia* (No. 134) stammenden Exemplare beschrieben, die aus *Geranospizias* (No. 481) und *Asturina* stammenden Materialien sind stark mazeriert und ist es wohl sicher, daß sie demselben Genus, unsicher aber, ob sie derselben Art angehören.

Direkt unter der Cuticula finden sich zahlreiche Kalkkörperchen.

Die Parenchymmuskulatur ist stark entwickelt. Gehen wir von der inneren Transversalmuskulatur nach außen, so finden wir folgende Muskellagen: zunächst eine Lage kleiner Längsmuskelbündel, auf welche nach außen eine nicht immer deutliche zweite Lage von Transversalfasern folgt, dann folgen 2—3 Lagen unregelmäßig angeordneter Längsbündel, von welchen die innersten die größten und größer als die vorgenannten, zwischen zwei Transversalfasersystemen gelegenen Längsbündel sind. Die Dorsoventralfasern sind zahlreich. Bemerkenswert ist noch, daß am Rande der Proglottis, wo sonst bei anderen Tänien die Muskulatur schwächer, ja sogar unterbrochen ist, bei dieser Tänie weder eine Abnahme in der Dicke des Bündels, noch in deren Zahl zu bemerken ist.

Interessant ist das Wassergefäßsystem, indem auf der Seite, wo die

1) Fuhrmann, O., Neue Arten und Genera von Vogeltänien. (Zoolog. Anz. Bd. XXIV. p. 272.)

Geschlechtsorgane ausmünden, das weite Wassergefäß, ventral das sehr enge, dickwandige, dorsal über ihm liegt, während auf der gegenüberliegenden Seite die Disposition der beiden Gefäße umgekehrt ist, indem das enge Gefäß ventral, das weite dorsal liegt. Nur das weite Gefäßpaar besitzt ein Verbindungsgefäß (Fig. 4).

Die Kalkkörperchen liegen im peripheren Rindenparenchym.

Das Parenchym zeigt am vorderen Teil jedes Gliedes eine besondere Struktureigentümlichkeit, die bei der Behandlung des Uterus näher beschrieben werden wird.

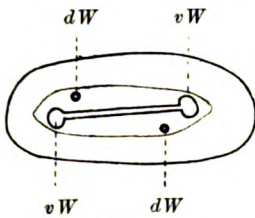


Fig. 4.



Fig. 5.



Fig. 7.

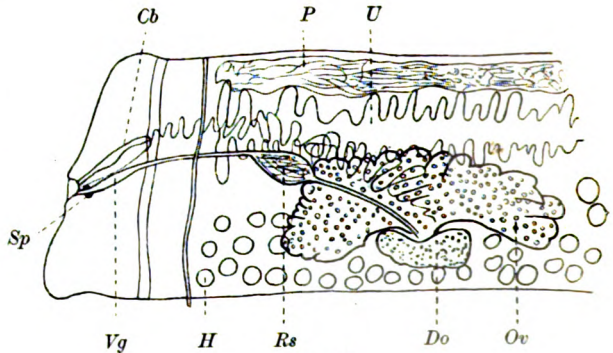


Fig. 6.

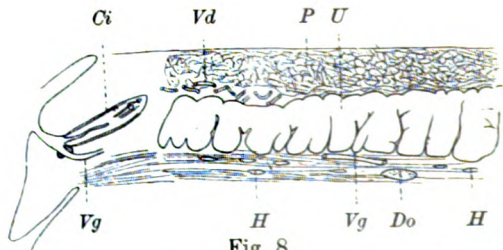


Fig. 8.

- Fig. 4. *Culcitella rapacicola* n. g. n. sp. Querschnitt zur Demonstration der besonderen Lage der Längswassergefäße. *vW* ventrales Gefäß, *dW* dorsales Wassergefäß.  
 Fig. 5. *Culcitella rapacicola* n. g. n. sp. Skolex.  
 Fig. 6. *Culcitella rapacicola* n. g. n. sp. Totalpräparat. Bezeichnungen siehe Fig. 2 und 3. *Rs* Receptaculum seminis. *Sp* Sphinkter der Vagina.  
 Fig. 7. *Culcitella rapacicola* n. g. n. sp. Vagina mit Sphinkter und Receptaculum seminis.  
 Fig. 8. *Culcitella rapacicola* n. g. n. sp. Horizontaler Schnitt durch eine reife Proglottis. Bezeichnungen siehe Fig. 2 und 3.

Die Geschlechtsorgane münden einseitig etwa in der Mitte des seitlichen Randes des Gliedes in die ziemlich tiefe Genitalkloake aus. Die Geschlechtsgänge gehen zwischen den Wassergefäßen und unter dem Hauptlängsnerven durch.

Der muskulöse Cirrusbeutel ist 0,14 mm lang und erreicht kaum das Längsgefäß des Exkretionsorganes. Der Cirrus zeigt einen gut entwickelten Retraktor. Es findet sich weder im Cirrusbeutel noch außerhalb desselben eine Vesicula seminalis. Das Vas deferens ist bei seinem Austritt stark gewunden und dicht umgeben von Drüsenzellen, es kann dasselbe bis in die Nähe des Ovariums verfolgt werden. Hinter dem Keimstock und seitlich von ihm liegen die zahlreichen Hoden

(ca 50), welche in doppelter und dreifacher Lage übereinander im Markparenchym angeordnet sind. Der Durchmesser der Testikel beträgt 0,07 mm.

Die weiblichen Geschlechtsdrüsen liegen in der Mitte, nahe dem Hinterrande der Proglottis (Fig. 6). Die Vagina bildet, nachdem sie über die Region des Ovariums hinaus ist, ein scharf begrenztes kleines Receptaculum seminis, von wo aus sie direkt zur Genitalkloake eilt. Von der Stelle an, wo der weibliche Geschlechtsgang das Wassergefäß überschreitet, bis zu seiner Oeffnung ist die Wandung sehr stark und findet sich außerdem nahe der Ausmündung ein großer Sphinkter.

Interessant ist die Ausbildung des Uterus. Derselbe liegt vor dem Keimstock, der eigentümlich struierten, am Vorderrand der Proglottis gelegenen Parenchymmasse anliegend. Diese Parenchymmasse ist bei einem 0,38 mm langen Gliede 0,1 mm lang und nimmt die ganze Höhe des Markparenchyms ein. Ihre Struktur ist fein wabig, die Waben erfüllt von einer feinkörnigen Substanz. Der Uterus bildet anfangs nach vorn und hinten zahlreiche tiefe Aussackungen (Fig. 7), von welchen aber die vorderen sich verflachen, so daß schließlich von denselben fast nichts mehr zu sehen ist (Fig. 8). Nach der Ausweitung des Uterus schwinden die weiblichen Genitaldrüsen sowie die Hoden. Das Parenchym zwischen dem Uterus und dem Hinterrand der Proglottis scheint stark gepreßt und findet man in ihm Hoden- und Dotterstockreste, sowie Teile der Vagina.

Leider ist der Erhaltungszustand kein guter und fanden sich keine losgelösten reifen Proglottiden vor, aber es ist sehr wahrscheinlich, daß, wenn der Uterus einmal gefüllt, die Eier in die präuterine Parenchymmasse gedrängt werden, welche zu einer Uteruskapsel wird. Dieser Prozeß scheint an einzelnen Gliedern im Gange zu sein und zwar sieht man die Eier seitlich in die grobmaschig gewordene Parenchymmasse eindringen. Hierdurch wird das hintere gepreßte Parenchym von Druck befreit und dehnt sich aus. Die hintere organfreie Zone des Gliedes wird dadurch viel breiter.

Die Diagnose des neuen Genus würde nach obiger und nachfolgender (*C. crassa*) Beschreibung lauten: Skolex mit einfachem Rostellum, bewaffnet mit einem doppelten Kranz von Haken. Genitalporen einseitig oder unregelmäßig abwechselnd. Die Geschlechtsgänge gehen zwischen den beiden Exkretionsstämmen durch. Vor dem Uterus liegt ein parenchymatöses Organ, in welches wohl die Eier gedrängt werden. Besonders charakteristisch ist der Umstand, daß auf der einen Seite der Strobila das enge Exkretionsgefäß dorsal vom weiten und auf der entgegengesetzten Seite aber ersteres ventral von letzterem, sonst allgemein ventral disponierten liegt.

### *Culcitella crassa* n. g. n. sp.

Fig. 9—10.

Wirt: *Spizaetus ornatus* Daud.

Geographische Verbreitung: Zentral- und Südamerika.

Fundort: Brasilien. Hofmuseum in Wien, Glas No. 484.

Diese Art gehört demselben Genus an wie *Cul. rapacicola* n. sp.; sie wird 17 cm lang und ist 3 mm breit, dabei ist die Strobila kurz-



gliedrig. Der Skolex zeigt einen Durchmesser von 0,23 mm, die Saugnäpfe einen solchen von 0,1 mm.

Das einfach gebaute Rostellum trägt eine doppelte Krone von 34 Haken, die 0,023 mm lang sind. Ihre Form konnte nicht ganz genau erkannt werden, doch gibt Fig. 8 ein gutes Habitusbild.

Die Muskulatur, leider mazeriert, besteht aus einer schwachen Dorsoventral- und Transversalmuskulatur. Die Längsmuskulatur besteht wahrscheinlich aus zwei (?) Lagen von Bündeln, von welchen die äußeren bedeutend schwächer sind.

Im peripheren Teil des Parenchyms, besonders unter der Cuticula und namentlich in der hinteren Hälfte der Proglottis finden sich zahlreiche Kalkkörperchen. Das Parenchym zeigt, wie bei voriger Art, im Vorderteil jedes Gliedes eine besondere Struktur.

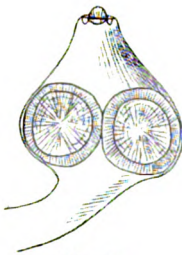


Fig. 9.



Fig. 9a.

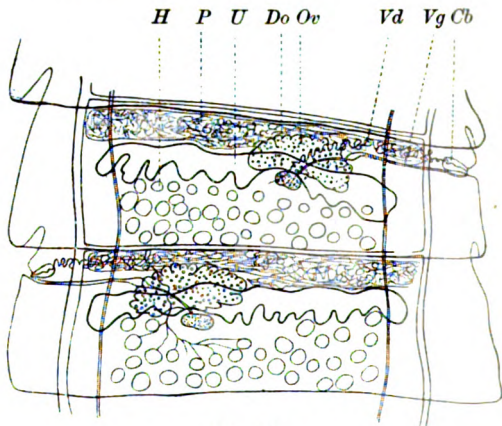


Fig. 10.

Fig. 9. *Culcitella crassa* n. sp. Skolex.

Fig. 9a. *Culcitella crassa* n. sp. Haken des Skolex.

Fig. 10. *Culcitella crassa* n. sp. Totalpräparat. Bezeichnungen wie in Fig. 2 und 3.

Besonders charakteristisch ist, wie schon bei *C. rapacicola* erwähnt, das Wassergefäßsystem, indem auf der einen Seite der Strobila das weite Längsgefäß des Exkretionssystems ventral, auf der gegenüberliegenden Seite aber dorsal über dem engen, weiter nach innen verlegten Längsgefäß liegt.

Der Hauptlängsnerv liegt dorsal, die Geschlechtsgänge gehen unter ihm durch.

Die Anatomie der Geschlechtsorgane ist deutlich verschieden von der vorhergehenden Art desselben Genus.

Die Hoden (0,08 mm Durchmesser), 50—60 an der Zahl, liegen hier meist in einfacher Lage hinter den weiblichen Geschlechtsdrüsen. Das in der Nähe des Dotterstockes beginnende Vas deferens ist weniger stark gewunden als bei *C. rapacicola*, aber ebenfalls von großen Zellen dicht umhüllt. Der keulenförmige Cirrusbeutel ist klein, erreicht das Längsexkretionsgefäß bei weitem nicht, indem er nur 0,11 mm lang, während das weite Gefäß 0,2, das enge 0,4 mm vom Rande entfernt liegt. Wie bei der vorhergehenden Art, so besitzt auch hier der Cirrus zahlreiche Muskelfasern, welche, am inneren Ende des Cirrusbeutels angeheftet, als Retraktoren funktionieren.

Die weiblichen Geschlechtsdrüsen liegen nicht median, sondern der Seite des Genitalporus genähert und zwar so, daß bei einer Breite des Gliedes von 1,8 mm die Mitte der weiblichen Drüsen nur 0,68 mm vom Rande entfernt liegt. Wie bei *C. rapacicola* ist das Ovarium annähernd fächerförmig 0,49 mm breit, die ganze Höhe des Markparenchyms einnehmend. Der Dotterstock ist 0,15 mm breit. Die Vagina zeigt ein kleines spindelförmiges Receptaculum und mündet über dem Cirrus in die Genitalkloake.

Die unregelmäßig, bald links, bald rechts ausmündenden Geschlechtsgänge gehen zwischen den Wassergefäßen und unter den Hauptlängsnerven durch zu der im vorderen Drittel des Randes gelegenen Genitalkloake.

Leider waren nicht genügend reife Glieder vorhanden, um die Entwicklung des Uterus zu verfolgen; er liegt in jugendlichem Zustande dorsal als querverlaufender Schlauch, der nur nach hinten Aussackungen zu haben scheint. Vorn legt es sich an die feinmaschige Parenchymzone an, welche zwischen dem hinteren Quergefäß des Exkretionssystems und dem Uterus liegt. Der Uterus dehnt sich zunächst nach hinten aus. Auch hier konnte das nachträgliche Eindringen der Oncosphären in die Parenchymmasse nicht beobachtet werden.

***Laterotaenia natteri* n. g. n. sp.**

Fig. 11—13.

Wirt: *Cathartes papa* (L.).

Geographische Verbreitung: Südamerika.

Fundort: Brasilien. Hofmuseum in Wien, Glas No. 486.

Dieser Vogelcestode erreicht eine Länge von ca. 8 cm bei einer maximalen Breite von  $3\frac{1}{3}$  mm. Die Glieder sind zuerst rechteckig, dann quadratisch und am Hinterende etwas länger als breit. Bei 1,5 mm Breite sind die Glieder  $\frac{3}{4}$  mm lang, bei  $2\frac{3}{4}$  mm Breite 1,75 mm lang und bei 3 mm Breite 3 mm lang. Die Zahl der Proglottiden ist infolge ihrer Größe eine beschränkte und zählte ich bei einem reifen Exemplar von 8 cm Länge nur ca. 70 Glieder.

Der Skolex ist 0,29—0,34 mm breit und trägt vier 0,11 mm im Durchmesser messende Saugnäpfe.

Vorn liegt ein kleiner, 0,048 mm messender Muskelzapfen, der eine doppelte Krone von mindestens je 16 Haken trägt (die Hakenkrone war nicht ganz vollständig).

Die größeren Haken messen 0,016 mm, die kleineren 0,09 mm.

An der Grenze zwischen zwei Proglottiden zeigt das Parenchym auf einer schmalen Zone, welche die ganze Breite einnimmt, eine großmaschige Struktur. Es erleichtert dieses Gewebe wohl das Loslösen der einzelnen Glieder von der Strobila und ist keineswegs ein Parauterinorgan.

Die Muskulatur besteht aus einer doppelten Lage von Längsmuskelfaserbündeln von ungefähr gleich starker Entwicklung. Dieselben sind ziemlich unregelmäßig verteilt und aus wenigen Fasern zusammengesetzt. Die Transversalmuskulatur und die Dorsoventralfasern zeigen nichts Besonderes.

Das enge Gefäß des Exkretionssystems liegt weit nach innen verlegt, in geschlechtsreifen Proglottiden ist dasselbe 0,36 mm vom Rande entfernt, während das weitere ventrale Gefäß nur 0,12 mm nach innen verlegt ist.



Der Hauptlängsnerv liegt dorsal nur wenig außerhalb des ventralen Exkretionsstammes.

Die unregelmäßig abwechselnd bald links, bald rechts ausmündenden Geschlechtsorgane sind sehr charakteristisch.

Die Hoden sind ganz seitlich disponiert und zwar längs und beiderseits des dorsalen Exkretionsstammes. Auf der Seite des Genitalporus sind es etwa 36, auf der entgegengesetzten 42—45 Testikel; ihr Durchmesser beträgt 0,05—0,06 mm. Nur ganz selten und vereinzelt sieht man in der breiten medianen, von Organen freien Parenchymzone einzelne Hodenbläschen. Das Vas deferens beginnt in der Nähe des Dotterstockes, dort vereinigen sich die Vasa efferentia; ersteres zieht in zahl-

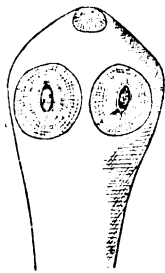


Fig. 11.



Fig. 11a.

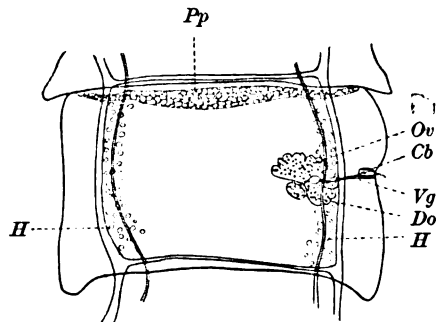


Fig. 12.

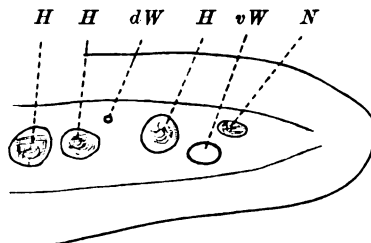


Fig. 13.

Fig. 11. *Laterotaenia natterii* n. g. n. sp. Skolex.

Fig. 11a. *Laterotaenia natterii* n. g. n. sp. Haken des Skolex.

Fig. 12. *Laterotaenia natterii* n. g. n. sp. Proglottis, Totalpräparat. Bezeichnungen wie in Fig. 2. Pp alveoläres Parenchymgewebe.

Fig. 13. *Laterotaenia natterii* n. g. n. sp. Seitlicher Teil eines Querschnittes. H Hoden, N Längsnerv, dW dorsales Exkretionsgefäß, vW ventrales Exkretionsgefäß.

reichen Schlingungen zwischen den beiden Exkretionsstämmen und unter dem Längsnerv durch zum 0,12 mm langen Cirrusbeutel. Derselbe ist muskulös und enthält einen kurzen Cirrus.

In die zwischen erstem und zweitem Drittel des Proglottidenrandes gelegene Genitalkloake mündet über oder hinter dem Cirrusbeutel die Vagina. Sie ist dickwandig, auf der Höhe des Ovariums verengert sie sich plötzlich stark, um sich aber sofort zu einem 0,08 mm im Durchmesser messenden Receptaculum seminis zu erweitern.

Der Keimstock liegt ganz lateral, das ventrale Wassergefäß berührend, während das dorsale Exkretionsgefäß über dasselbe hinweggeht. Auf der poralen Seite geht der fächerförmige Keimstock nach hinten, so daß die weibliche Geschlechtsdrüse schief gelagert erscheint. Der Dotter-

stock ist so vorn und auf der äußeren Seite vom Keimstock umfaßt. (Breite des Keimstockes 0,57 mm, Dotterstock 0,2 mm.)

Der Uterus ist anfangs dorsal vom Ovarium gelagert und nur von der Größe des letzteren, bald aber verzweigt er sich stark und erfüllt die ganze mediane leere Markparenchymzone. In ganz reifen Gliedern bildet der Uterus einen das ganze innere Parenchym erfüllenden Sack.

Das Receptaculum, ein Teil der Vagina, der Cirrusbeutel und, ziemlich weit nach hinten verschoben, auch der Dotterstock, bleiben in den reifen Gliedern bestehen.

Die Eier sind von zwei Hüllen umgeben; die äußere, 0,03 mm im Durchmesser messende, ist ziemlich stark; die Oncosphäre hat einen Durchmesser von 0,025 mm.

Für diese sehr charakteristische Form schlage ich den Genusnamen *Laterotaenia* vor, dessen Diagnose folgendermaßen lautet: Cestoden mit einfachem, mit doppeltem Hakenkranz bewaffneten Rostellum. Die zahlreichen männlichen Genitaldrüsen ganz seitlich gelagert; ebenso die einfachen weiblichen Geschlechtsdrüsen. Die Geschlechtsgänge gehen unregelmäßig abwechselnd zwischen den Wassergefäßen und unter dem Hauptnerven durch zum Gliedrand. Der größte Teil des Markparenchyms ist frei von Geschlechtsorganen. Uterus sackförmig. Oncosphären mit zwei Hüllen.

(Schluß folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Zur Frage über die Bedeutung der Fixatoren und Stimuline im bakteriziden Serum.

[Aus dem bakteriologischen Institut der medizinischen Gesellschaft in Charkow, Rußland.]

Von Dr. W. J. Nedrigailoff.

Während meiner Arbeit im Pasteurschen Institute zu Paris wurde mir von Prof. J. J. Metschnikoff vorgeschlagen, die im selben Laboratorium von Dr. Gengoux (1) hinsichtlich der Virulenz der mit dem Fixator belasteten Stäbchen des Schweinerotlaufs angestellten Beobachtungen näher zu untersuchen und an einem spezifischen Serum die Bedeutung der Fixatoren und Stimuline in Prozesse der Verteidigung des Organismus gegen die Ansteckung zu zeigen.

Wie bekannt, bestehen die bakteriziden wie auch die hämolytischen Sera, die durch eine Immunisierung der Tiere mit gewissen Bakterienarten oder Blutkörperchen erhalten werden, aus zwei bis jetzt festgestellten Elementen: Einem (spezifischen), dessen spezifische Kraft von den dem Tiere eingeführten Bakterien resp. Blutkörperchen abhängt; man nennt es einen Fixator, Substance sensibilisatrice, einen „Ambozeptor“. Das zweite heißt Alexin oder Komplement. Das letztere befindet sich nur im frischen Serum, verschwindet aber bei Aufbewahrung desselben im Laufe einiger Tage oder bei Erwärmung auf 56—57° in  $\frac{1}{2}$  Stunde. Der Fixator verändert sich dagegen nicht unter diesen Bedingungen. Die Arbeiten von Ehrlich und Morgenroth haben

gezeigt, daß Bakterien und Blutkörperchen eine ziemlich feste Verbindung mit spezifischen Fixatoren eingehen.

Bordet und Gengoux (2) haben in einer Reihe interessanter Versuche bewiesen, daß manche Bakterien unter der Einwirkung eines spezifischen Fixators eine besondere Neigung erhalten, gierig Alexin aufzunehmen und es aus dem frischen Serum eines gesunden Tieres zum Verschwinden zu bringen.

Bakterien selbst aber nehmen kein Alexin auf, oder nur in einem sehr geringen Grade. Diese Eigenschaft der mit dem Fixator verbundenen Bakterien — Alexin dem frischen Serum abzuziehen — benutzten Bordet und Gengoux, um zu entscheiden, ob spezifische Fixatoren im gegebenen Serum vorhanden sind oder nicht. Sind einmal keine da, so erleiden die im Kontakt mit einem solchen Serum gewesenen Bakterien keine Veränderungen an ihren Eigenschaften, ziehen ihm also Alexin nicht aus. Im anderen Falle verliert das frische Serum sein Alexin. Die An- und Abwesenheit von Alexin im Serum wird nach Bordet und Gengoux sehr einfach konstatiert. Dazu sind rote Blutkörperchen erforderlich, die mit dem Fixator eines solchen Serums gesättigt sind, welches einem gegen diese Blutkörperchen immunisierten Tiere entnommen wurde. Solche „sensibilisierte“ Körperchen verfallen unter der Einwirkung des Alexins resp. des frischen Serums sehr bald einer Hämolyse. Das Resultat muß also verschieden sein, je nachdem man Blutkörperchen dem Gemische, wo der Fixator vorhanden ist, zusetzt, oder dorthin, wo kein Fixator zugegen ist, wohl aber Bakterien und Alexin. Im ersten Falle vereinigen sich die Bakterien mit dem Fixator, ziehen auch infolgedessen das Alexin aus; die diesem Gemische zugesetzten sensibilisierten Blutkörperchen unterliegen also nicht der Auflösung, im zweiten Falle aber, in welchem das Alexin frei ist, findet eine Hämolyse statt. Um das Gesagte an einem Beispiele zu veranschaulichen, will ich die Tabelle von Bordet und Gengoux anführen; dieselbe zeigt die Existenz von spezifischen Fixatoren im antipestösen Serum (s. Tab.).

Gemische von Alexin, Pestbakterien und Sera werden 5–6 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dann werden allen Reagenzröhrchen je 0,2 ccm von Blutkörperchen eines Kaninchens zugesetzt, die vorher durch ein spezifisches Serum eines gegen diese Blutkörperchen immunisierten Meerschweinchens sensibilisiert worden sind. Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß da, wo kein Alexin zugesetzt wurde (5. und 6. Reihe), auch da, wo das letztere von Pestbakterien bei der Anwesenheit eines für dieselben spezifischen antipestösen Serums aufgenommen worden ist, keine Hämolyse stattfindet (1. Reihe).

Alexin	Pestbakterien	Sogenanntes inaktives Pferdeserum		Sensibilisierte Blutkörperchen eines Kaninchens	Resultate: Hämolyse
		antipestös	einfach		
1) 0,2	0,4	1,2	—	0,2	fehlt
2) 0,2	0,4	—	1,2	0,2	vorhanden
3) 0,2	—	1,2	—	0,2	"
4) 0,2	—	—	1,2	0,2	"
5) —	0,4	1,2	—	0,2	fehlt
6) —	0,4	—	1,2	0,2	"

Das einfache Pferdeserum blieb ohne Wirkung auf die Pestbakterien. Sie haben das Alexin nicht gebunden (2. Reihe). Auf die Weise, welche

in der Tabelle angegeben ist, haben sich Bordet und Gengoux von der Anwesenheit des Fixators in einigen bakteriziden Sera überzeugt, unter anderem auch im Serum gegen Schweinerotlauf, welches von Pferden bei ihrer Immunisierung mit denselben Bakterien erhalten wurde. Nachdem die Ueberzeugung gewonnen wurde, daß dieses Serum beim Zusammenmischen desselben in einem bestimmten Verhältnis mit den Stäbchen des Schweinerotlaufs weiße Mäuse vor der Erkrankung schützt, während Kontrollmäuse bald zu Grunde gehen, stellte Gengoux nach dem Rate von J. J. Metschnikoff eine Reihe folgender Versuche an: Er vermischte Stäbchen des Schweinerotlaufs mit dem spezifischen Serum. Das letztere wurde dann nach einigen Stunden durch das Abwaschen mit einer physiologischen Kochsalzlösung in einer Zentrifuge wieder ordentlich von den Bakterien entfernt. Darauf wurden die Bakterien weißen Mäusen eingespritzt. Die Stäbchen waren in genügendem Grade von dem Fixator durchtränkt; trotzdem aber töteten sie weiße Mäuse fast ebenso rasch als Stäbchen, die in keinem Kontakt mit dem Serum gestanden haben.

Die Versuche von Gengoux ließen J. J. Metschnikoff annehmen, daß die therapeutische Wirkung des Serums gar nicht vom darin enthaltenen und Bakterien durchtränkenden Fixator abhängt. Das Serum müsse noch eine andere Substanz enthalten, nämlich die, welche die Tätigkeit der Phagocyten anregt. Dafür spricht nach seiner Meinung folgende Tatsache: Werden einmal die Bakterien des Schweinerotlaufs mit dem Serum zusammen in die Bauchhöhle oder unter die Haut von weißen Mäusen eingespritzt, so macht sich an der Stelle der Einspritzung eine starke Phagocytose bemerkbar und das Tier bleibt am Leben. Im Gegenteil beobachtet man keine Phagocytose oder nur eine geringe bei der Einspritzung von sensibilisierten Bakterien und das Tier geht dann zu Grunde.

J. J. Metschnikoff hat mir vorgeschlagen, diese Ergebnisse zu untersuchen, sie zu kontrollieren und auf Grund der Untersuchung des Antischweinerotlaufserums die Bedeutung der Fixatoren und Substanzen, welche die Tätigkeit der Phagocyten anregen, der sogenannten Stimuline, zu ermitteln.

Beim Durchsehen der Literatur kam es heraus, daß noch vor Gengoux Mesnil (3) das Erhalten der Virulenz der Bacillen des Schweinerotlaufs, die mit dem spezifischen Serum in Kontakt standen, später aber von ihm befreit worden waren, beobachtet hatte. Dergleichen Experimente mit Pneumokokken erwähnt Issajew (4), deren mit Vibrionen N. F. Gamalei, Sanarelli, dergleichen mit Anthraxbacillen J. G. Sawtschenko, mit Typhusbacillen Vernay. Bordet hat gezeigt, daß die Virulenz des Streptococcus, der im spezifischen Serum kultiviert wurde, nicht im mindesten geschwächt wird.

Vor allen Dingen beschloß ich, die Beobachtung von Mesnil und Gengoux hinsichtlich der Virulenz der mit dem Fixator gesättigten Bakterien des Schweinerotlaufs einer eingehenderen Untersuchung zu unterwerfen. Eine Kultur des Schweinerotlaufstäbchens habe ich aus dem bakteriologischen Museum des Pasteurschen Institutes von Binot bezogen, das spezifische Pferdeserum aber erhielt ich in genügendem Quantum vom Veterinärarzte Frasey, der sich mit Herstellen desselben im Pasteurschen Institute beschäftigt. Hier benutze ich die Gelegenheit, ihm meine Dankbarkeit auszudrücken.

Serum erhielt ich immer schon erwärmt, abgesehen von einem Falle,

wo mir ein ganz frisches Serum zugesandt wurde. Ich inaktivierte dasselbe, indem ich es im Laufe von  $\frac{1}{2}$  Stunde auf dem Wasserbade bis zu  $57^{\circ}$  erwärmte. Die Kultur der Stäbchen des Schweinerotlaufs habe ich durch 5 weiße Mäuse geführt. Erst nachdem stellte ich einige Versuche mit der Bestimmung der Kraft des Serums an. Weiße Mäuse, denen ein Gemisch aus 0,3 ccm 2-tägiger Bouillonkultur des Schweinerotlaufs mit verschiedenem Quantum von Serum (0,5—0,3—0,1 ccm) eingespritzt wurde, blieben am Leben. Bei 0,05 ccm Serum gingen die Mäuse am 5. Tage zu Grunde. Die Kontrollmaus ging von 0,3 ccm Kultur am 3. Tage zu Grunde. Nahm man einmal 0,5 ccm Bakterien, so starben die Mäuse auch schon bei 0,1 ccm Serum.

Erst nach diesen provisorischen Untersuchungen trat ich an die Bestimmung der Bedeutung des Fixators.

Für den ersten Versuch wurden Gemische aus 0,3 ccm 2-tägiger Bouillonkultur und 1,0 ccm Serum genommen. 4 Reagenzgläser wurden mit solchen Mischungen für die Nacht im Eisschrank stehen gelassen. Wie bekannt, ist der Fixator, im Gegenteil von Alexin, imstande, sich mit Bakterien auch bei niedriger Temperatur zu vereinigen. Fröh Morgens wurde in allen Reagenzgläsern ein Niederschlag erhalten. Die Flüssigkeit über ihm war klar. Ein Glas diente zur Kontrolle, die 3 übrigen aber wurden nach vorsichtigem Absaugen der Flüssigkeit mit einer Pipette je 2mal auf einer Zentrifuge mit einer physiologischen Kochsalzlösung ausgewaschen, wobei dazu jedesmal etwa 5 ccm Kochsalzlösung (0,85-proz.) genommen wurde. Zuletzt wurden die erhaltenen Niederschläge von sensibilisierten Bakterien mit 1 ccm Kochsalzlösung verdünnt und samt der Kontrollmischung 5 weißen Mäusen eingespritzt. Die Kontrollmaus blieb am Leben, die übrigen gingen am 3.—4. Tage zu Grunde.

Für den nächsten Versuch wurden 0,05—0,1 und 0,3 ccm Bakterien einer 2-tägigen Bouillonkultur und 0,5 ccm Serum genommen. Diese Gemische wie auch das Kontrollgemisch mit 0,05 ccm Bakterien ohne Serum wurden für die Nacht in dem Eiskeller stehen gelassen. Morgens aber wurden alle Gemische, das Kontrollgemisch ausgeschlossen, je 2mal auf einer Zentrifuge ausgewaschen. Durch die Kontrollmischung ging die Maus am 4. Tage, durch sensibilisierte Bakterien aber am 5.—6. Tage zu Grunde. In der anderen Reihe der Versuche wurden Gemische aus 5 ccm 2-tägiger Bouillonkultur und 10 ccm Serum hergestellt. Nach einer Nacht wurde das Serum abgegossen, der Niederschlag 2mal mittels einer Zentrifuge mit einer Kochsalzlösung ausgewaschen und dann mit 5 ccm Kochsalzlösung verdünnt. Davon erhielten die Mäuse verschiedene Dosen unter die Haut: 1—0,5—0,3—0,1 ccm, wonach alle am 3.—4. Tage zu Grunde gingen.

Alle diese Experimente ließen voraussetzen, daß Gengoux recht hatte, d. h., daß der Fixator keine Rolle im Schutze des Organismus gegen die Ansteckung spiele.

Im weiteren stellte ich mir die Aufgabe, zu ermitteln, ob die Bakterien des Schweinerotlaufs wirklich den Fixator dem spezifischen Serum abnehmen. Zu diesem Zwecke habe ich verschiedene Versuche angestellt, die mich zu ganz unerwarteten Resultaten geführt haben, nämlich kam heraus, daß das von mir untersuchte Pariser Serum bei der Anwendung der Methode von Bordet-Gengoux keine Fixatoren enthält.

Die negativen Resultate, die ich beim ersten Versuche erhalten,

zwangen mich, diese Experimente viele Male in verschiedenen Modifikationen, bald mit größeren, bald mit kleineren Quantitäten von Alexin, Serum und Bakterien, zu wiederholen. Immer aber blieb das Alexin frei und die zugesetzten sensibilisierten Blutkörperchen verfielen infolgedessen einer Hämolyse.

Als Alexin benutzte ich stets ein frisches Serum von gesunden Meerschweinchen. Nur selten wurden zum selben Zwecke Meerschweinchen gebraucht, die vordem zum Experimentieren gedient hatten. Als Kennzeichen von der An- oder Abwesenheit von Alexin in Gemischen dienten mir die roten Blutkörperchen, die der Einwirkung des spezifischen Serums der Meerschweinchen unterworfen worden waren. Die letzteren wurden vorher gegen die vom Serum abgewaschenen Blutkörperchen immunisiert. Bakterien wurden bei allen Experimenten der 2-tägigen Bouillonkultur entnommen.

Ehe ich irgend welche Folgerungen zog, beschloß ich, die analogen Versuche mit demselben Serum, aber anderen Ursprungs, anzustellen. Dazu benutzte ich das Serum, welches ich aus Charkow von dem Veterinärarzte N. D. Agali erhalten hatte. Ihm bringe ich hier meinen herzlichen Dank.

Die Versuche, welche zum Zwecke der Bestimmung der spezifischen Fixatoren in diesem Serum angestellt worden sind, haben nach derselben Methode von Bordet-Gengoux mit einem Male positive Resultate gegeben, währenddessen das Pariser Serum, gleichzeitig untersucht, den früher an ihm ermittelten Eigenschaften treu blieb. Auf diese Weise hatte ich ein Serum mit spezifischen Fixatoren zu meiner Verfügung und konnte zur Bestimmung ihrer Bedeutung schreiten.

Die Experimente mit den durch das Charkower Serum sensibilisierten Bakterien des Schweinerotlaufs haben dieselben Resultate wie auch bei der Benutzung des französischen Serums gegeben, d. h. Mäuse gingen gleichfalls bei der Einspritzung von Bakterien sowohl mit wie auch ohne Fixatoren zu Grunde. Kontrollversuche mit dem Charkower Serum haben gezeigt, daß 0,5–0,3 ccm, auch sogar 0,1 ccm desselben Mäuse gegen 0,3 ccm einer 2-tägigen Bouillonkultur schützten.

Könnte man einmal glauben, daß Mäuse bei den Experimenten mit dem französischen Serum dadurch zu Grunde gehen, daß das Serum keine Fixatoren enthalte, so zeigten die Versuche mit dem Charkower Serum, daß dieselben Resultate auch bei deren Anwesenheit zu erzielen seien.

Sich mit Bakterien vereinigend wirken also die Fixatoren nicht auf ihre Virulenz, regen die Phagocytose nicht an, auch schützen sie das Tier nicht vor Ansteckung. Aus diesem Grunde meint, wie oben erwähnt, Metschnikoff, daß nicht die Fixatoren, sondern viel eher die sogenannten Stimuline die Hauptkraft der Sera bilden, indem dieselben die Tätigkeit der weißen Blutkörperchen im Kampfe mit Bakterien in ausgesprochenem Grade anregen.

Meine weiteren Versuche waren auf das Ermitteln von Stimulinen im Schweinerotlaufserum gerichtet. Deswegen blieb ich beim Untersuchen von Eigenschaften dieses Serums, welches seiner Fixatoren auf eine oben erwähnte Art und Weise (der Resorption derselben mit den Stäbchen des Rotlaufs) beraubt worden war. Es war ganz natürlich, vorauszusetzen, daß in so einem Serum noch Stimuline enthalten sind; das Serum müßte aktiv bleiben wie zuvor und Mäuse vor der Infektion schützen.

Ich erwähne hier nur ein Experiment, will aber dabei bemerken, daß ich in der Mehrzahl der Experimente gleichzeitig mit dem Charkower auch das französische Serum untersuchte.

2 l einer 2-tägigen Bouillonkultur des Schweinerotlaufs wurden durch die Chamberlandsche Kerze filtriert. Es hatten sich 20 ccm einer stark dickflüssigen Emulsion resultiert. Zu deren 10 ccm wurden 10 ccm vom Charkower Serum zugesetzt und ebensoviel vom Pariser Serum zu dem übriggebliebenen. Die erhaltenen Mischungen wurden für die Nacht in den Eiskeller gestellt. Der Kontrolle wegen wurden auch noch Mischungen von gleichen Proportionen aus Serum und Bouillon, die zum Kultivieren der genannten Stäbchen gedient haben, hergestellt. Morgens wurden alle 4 Proben wieder auf dieselbe Art durch die kleinen Chamberlandschen Kerzen filtriert und sofort Versuche an weißen Mäusen behufs der Bestimmung der therapeutischen Eigenschaften der erhaltenen Filtrate angestellt.

Quantum des Filtrates	Quantum einer Bakterien- kultur	Charkower Serum		Französisches Serum	
		zum Versuche gedient (ohne Fixator)	Kontrollserum (mit dem Fixator)	zum Versuche gebraucht	Kontrollserum
2,0	0,3	Die Maus ging am 5. Tage ein	lebt	ging am 5. Tage ein	lebt
1,0	0,3	{ Die Maus ging am 4. Tage ein	"	{ ging am 4. Tage ein	"
0,5	0,3		ging am 5. Tage ein		ging am 6. Tage ein
0,25	0,3		ging am 3. Tage ein		—
Kontrolle	0,3	Die Maus ging am 3. Tage ein	ging am 3. Tage ein	—	—

Die Versuche wurden, wie man aus der Tabelle ersieht, einigemale mit demselben Resultate wiederholt, wobei Bakterien zu verschiedenen Quantitäten (von 0,3—0,01 ccm einer 2-tägigen Kultur) gebraucht wurden.

Aus der Tabelle wird es klar, daß das Charkower Serum sich nach der Entfernung seines Fixators, selbst auch in bedeutendem Quantum genommen (1 ccm), als unwirksam gezeigt hatte. Man kann daraus den Schluß ziehen, daß in den von mir untersuchten Filtraten des Charkower Serums keine Stimuline vorhanden seien.

Zum gleichen Resultate kam auch L. Vernay, welcher in derselben Richtung mit dem Abdominaltyphusserum gearbeitet hatte.

Trotz den negativen Resultaten, die durch das seiner Fixatoren beraubte Serum erhalten wurden, darf man die Frage über Stimuline noch nicht als erledigt betrachten. Man kann voraussetzen, daß Stimuline dem Serum im Anfange des Experiments entrissen werden, wenn es mit Bakterien gemischt wird. Infolge des Zusammenklebens bildet sich, wie bekannt, ein bedeutender Niederschlag, der auch Stimuline enthalten kann, die beim nachfolgenden Waschen mit der physiologischen Kochsalzlösung entfernt werden. Man könnte weiter zulassen, Stimuline seien (kompliziert) zusammengestellte Körper, deren einer Teil von Fixatoren gebildet wird, der andere aber — unbekannter Ergänzungs- teil — nach der Entfernung des ersteren im Serum zurückbleibt. Hätten sich die sensibilisierten Bakterien nach der Zugabe von Serum, das keine Fixatoren enthält, für das Tier als nicht virulent gezeigt, so hätte eine solche Voraussetzung noch mehr Wahrscheinlichkeit. Jetzt bin ich deswegen mit derartigen Experimenten beschäftigt.

Noch interessanter gestalten sich die Experimente mit dem französischen Serum gegen Rotlauf, die aus derselben Tabelle ersichtlich sind. Es erklärt sich daraus, daß das Serum, in welchem keine Fixatoren nach der Methode von Bordet und Gengoux zu entdecken waren, seine Aktivität nach dem Kontakt mit den Bakterien eingebüßt hatte, was wohl als Folge der Resorption der Fixatoren durch die Bakterien angesehen werden darf. Nicht in jedem Serum ist man also im stande, die Anwesenheit der in demselben bestimmt enthaltenen Fixatoren zu konstatieren: Ein solcher Versuch mißlang, wie wir es gesehen haben, mit dem französischen Serum. Mit dem Charkower Serum wurden positive Resultate erhalten. Die gleichen Ergebnisse sind vor kurzem von Besredka aus dem Laboratorium von Metschnikoff beziehentlich des Antistreptokokkenserums veröffentlicht worden. In seinem französischen Serum vermochte er mittels der Methode von Bordet-Gengoux das Vorhandensein der Fixatoren zu konstatieren, mit dem gleichen Serum von Aronson aber erhielt er negative Resultate. Es ist nötig, zu bemerken, daß Besredka als Alexin auch das Serum von Meerschweinchen benutzte. Er meint, das Serum von Aronson enthalte überhaupt keinen Fixator, obschon dasselbe beim Experimentieren sich gegen Ansteckung mit Streptokokken als aktiv zeigte. Er zieht daraus den Schluß, daß die Serumaktivität nicht von den Fixatoren, sondern viel eher von den Stimulinen abhängt.

Der wahre Grund des Unterschiedes zwischen dem Pariser und Aronsonschen Serum, welchen Besredka beobachtet hatte, liegt aller Wahrscheinlichkeit nach in der Verschiedenheit der Rassen der für die Immunisierung der Pferde verwendeten Streptokokken, oder es spielt dabei vielleicht auch die verschiedene Methodik der Immunisierung eine Rolle. Besredka benutzte ausschließlich Agar-, Aronson aber Bouillonkulturen. Im ersten Falle werden in den Körper des Tieres lauter Bakterienleiber, im zweiten aber außer denselben noch die uns unbekannten Produkte der Lebenstätigkeit der Streptokokken in Bouillon eingeführt. Die letzteren vermögen bei der Einführung in den Organismus eines Tieres die Bildung unbekannter Antikörper, die möglicherweise bei der Versuchsanordnung nach der Methode von Bordet-Gengoux gar nicht indifferent sind, zu verursachen.

Dieses Raisonnement über die Bedeutung des Unterschiedes in den zum Gebrauch dienenden Bakterienarten und Immunisierungsmethoden ist zu dem Pariser und Charkower Serum gegen Rotlauf auch vollkommen anwendbar. Auch nicht ohne Bedeutung ist die Tatsache, daß ich die Kultur des Rotlaufs vorläufig an 5 weißen Mäusen durchgeführt hatte.

Alle erwähnten Umstände dienen vielleicht bei der Immunisierung als Ursache der Bildung solcher Fixatoren, für welche das Alexin der Meerschweinchen nach der Theorie Ehrlichs ungeeignet erscheint. Dieses Alexin wird von den Bakterien, die durch das Aronsonsche Antistreptokokkenserum oder durch das Pariser Serum gegen den Rotlauf sensibilisiert worden sind, nicht resorbiert. Es wird dagegen mit denselben Bakterien in dem Falle resorbiert, wenn die letzteren durch das Pariser Antistreptokokkenserum oder durch das Charkower Antirotlaufserum sensibilisiert worden sind.

Vom Standpunkte Ehrlichs betrachtet, deuten die negativen Resultate bei der Anwendung des Bordet-Gengoux'schen Verfahrens noch nicht auf die Abwesenheit der Fixatoren im Serum hin. Meine



Versuche mit dem Entfernen der Aktivität aus dem französischen Serum gegen Rotlauf mittels Stäbchen sprechen zu Gunsten dieser Voraussetzung.

Zum Schluß dieser Arbeit erlaube ich mir folgende Schlüsse aufzustellen:

1) Das Serum gegen Rotlauf, in dem Quantum injiziert, welches der tödlichen Dosis der diese Krankheit erzeugenden Bakterien entspricht, schützt das Tier vor der Erkrankung, indem dabei die stärkste Phagocytose stattfindet (Mesnil).

2) Fixatoren allein verändern nichts an der Virulenz der Bakterien, schützen das Tier auch nicht vor der Ansteckung.

3) Das Serum, das seiner Fixatoren beraubt ist, besitzt auch keine Aktivität.

4) Stimuline stellen vielleicht einen komplizierten Körper dar, der aus den uns bekannten Fixatoren und einem unbekannten Ergänzungsteil, der im Serum nach dem Entfernen seiner Fixatoren zurückbleibt, besteht.

5) Nicht in jedem Serum, welches Fixatoren enthält, können dieselben nach dem Bordet-Gengoux'schen Verfahren konstatiert werden.

Zuletzt halte ich es für meine Pflicht, Herrn Prof. J. J. Metschnikoff meine Dankbarkeit für das mir vorgeschlagene Thema auszudrücken.

#### Literatur.

- 1) Metschnikoff, J. J., L'immunité dans les maladies infectieuses.
- 2) Bordet et Gengoux, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1901. No. 5.
- 3) Mesnil, Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XII. 1898.
- 4) Issajew, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1893.
- 5) Sanarelli, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1893.
- 6) Vernay, La Riforma med. 1903. No. 22. p. 593.

*Nachdruck verboten.*

## Weitere Untersuchungen über den Mechanismus der Agglutination und Präzipitation.

### I. Teil.

[Aus dem k. k. hygienisch-bakteriologischen Institute der Universität Krakau. Vorstand: Prof. O. Bujwid.]

Von Dr. Philipp Eisenberg, Assistenten am Institute.

Mit 3 Figuren.

### I.

#### Einleitung.

Vorliegende Untersuchungen, deren Beginn 3 Jahre zurück datiert, bilden die Fortsetzung der von mir und R. Volk seinerzeit publizierten „Untersuchungen über die Agglutination“, sowie meiner „Untersuchungen über die spezifischen Präzipitationsvorgänge“. Ebenso wie dort habe ich es hier versucht, durch Anwendung physikalisch-chemischer Methoden und Betrachtungsweisen die intimeren Gesetze der Agglutinations- und Präzipitationsmechanismus zu eruieren, ein Problem, das trotz der

Wichtigkeit seiner praktischen Anwendungen und seiner Tragweite für die Immunitätslehre, sowie trotz der rastlosen Arbeit, die auf seine Begründung verwendet wurde, noch immer so viele dunkle Seiten bietet. Es soll damit durchaus nicht bezweifelt werden, daß außer dieser Fragestellung es noch eine andere, womöglich noch interessantere und sicherlich viel schwierigere gibt, die biologische Frage nach der Spezifität dieser Reaktionen und nach ihrer Ursache, sowie nach dem Entstehungsmodus der spezifischen Antikörper und ihrer Bedeutung für den Organismus, es scheint mir jedoch, daß nach Möglichkeit vor allem die physikalisch-chemischen Fragen als einer exakten Untersuchung zugänglicher erledigt werden sollten. Ob im weiteren Verlauf der Untersuchungen die biologischen Probleme allmählich in die physikalisch-chemischen übergehen, was wohl wünschenswert erscheinen muß, und vielleicht endlich darin rastlos aufgehen werden, das sind Fragen, die sich vorläufig der Entscheidung entziehen und deren Beantwortung wohl noch lange wird auf sich warten lassen. Angesichts der recht komplizierten und von verschiedenenlei Faktoren bedingten Natur beider Reaktionen mußten meine Untersuchungen gleichzeitig nach mehreren Richtungen hin sich bewegen, was natürlich auch bei der Anordnung und Besprechung des Tatsachenmaterials berücksichtigt werden mußte. Der größte Teil meiner Untersuchungen befaßt sich mit der Agglutinationsreaktion, die Koagulations- und Präzipitationserscheinungen wurden nur herangezogen, um die bei jenen erlangten Resultate zu vervollständigen und zu bestätigen. Was die Literatur betrifft, die, selbst wenn man nur die auf den Mechanismus der Reaktionen bezüglichen Arbeiten berücksichtigt, seit dem Erscheinen der beiden oben erwähnten Arbeiten übermächtig herangewachsen ist, so mußte wohl auf eine ausführliche Wiedergabe derselben verzichtet werden und konnte sie nur dort berücksichtigt werden, wo die Ergebnisse der verschiedenen Autoren dieselben Tatsachen betreffen, wie meine Untersuchungen, mögen sie nun mit ihnen übereinstimmen oder nicht, oder wo ihre kritische Besprechung für die Auffassung des betreffenden Problems von Bedeutung erschien.

## II.

### Technik der Untersuchungen.

Bei den Agglutinationsversuchen wurde mit geringen noch zu erwähnenden Abänderungen die von Eisenberg und Volk beschriebene Technik befolgt. Da nun die Technik, und zwar oft recht geringfügig scheinende Details, für die Beurteilung der gewonnenen Resultate von großer, ja entscheidender Wichtigkeit sein kann, halte ich es für angebracht, einige Bemerkungen darüber vorausszuschicken. Zu meinen Versuchen habe ich immer die Aufschwemmungen von lebenden, 1- bis 2-tägigen Agarkulturen in physiologischer Kochsalzlösung, die immer auf einen konstanten Trübungsgrad gebracht wurden. Die Verwendung von Bouillonkulturen, wie sie z. B. von französischen Autoren befürwortet wird, halte ich für wenig geeignet, einerseits mit Rücksicht auf die inkonstante Zusammensetzung des Nährbodens, die, wie wir wissen, auf den Charakter und Verlauf der Reaktion einen nicht zu kontrollierbaren Einfluß ausüben können, andererseits wegen der Neigung zu spontaner Sedimentation, die z. B. Cholera- und Typhuskulturen darin aufweisen, und endlich, was mir am wichtigsten erscheint, weil das Studium der für die Auffassung der Reaktion so wichtigen Hemmungserscheinung

dabei, wie wir unten sehen werden, zu kurz kommt. Die Tatsache, daß lebende Kulturen verwendet wurden (wo nicht etwa anderes besonders bemerkt ist), erfordert eine gewisse Rechtfertigung, zumal angesichts der Kritik, die M. Neisser an der Versuchstechnik von Eisenberg und Volk, sowie an den auf ihre Versuche basierten Deduktionen von Arrhenius geübt hat. Meines Erachtens (und diese Ueberlegung war auch seinerzeit für Eisenberg und Volk bei der Wahl ihrer Technik maßgebend gewesen), sollte man bei der Feststellung der Grundgesetze einer so komplizierten Reaktion, wie die Agglutination zweifellos eine ist, durchaus die Einführung jeden Faktors vermeiden, der im stande ist, einen der reagierenden Körper irgendwie zu modifizieren, es sei denn, daß es sich darum handelt, in einer besonderen Versuchsreihe gerade den Einfluß dieses Faktors zu beleuchten. Wie es scheint, können alle zur Abtötung der Bakterien gebräuchlichen Methoden die agglutinierbare Substanz mehr oder weniger verändern. Das Erhitzen kann die Agglutinierbarkeit der Bakterien entweder steigern — der seltenere Fall — oder, was wohl öfters vorkommt, es setzt sie herab. Das Formalin, das allgemein als für die Bakterien neutral angesprochen (wenigstens in der bei der Abtötung gebräuchlichen Konzentration) und von Neisser deshalb warm empfohlen wird, ist dennoch nicht jeden Einflusses auf die agglutinierbare Substanz bar, wie die weiter unten anzuführenden Versuche von mir, sowie die damit übereinstimmenden Befunde von Buxton und Vaughan dartun. Der Verwendung von lebenden Kulturen haftet wohl der von Neisser sowie von Craw hervorgehobene Nachteil an, daß nämlich die Bakterien, zumal bei länger dauernder Beobachtung, sich in den Proben vermehren können und daß dadurch ein Faktor, der während der ganzen Versuchsdauer konstant erhalten werden sollte, unkontrollierbare Veränderungen erleiden kann. Darauf gestützt, glaubt Neisser den Untersuchungen von Eisenberg und Volk, sofern sie die quantitativen Bindungsverhältnisse zwischen Agglutinin und agglutinierbarer Substanz betreffen, Exaktheit sowie Beweiskraft absprechen zu müssen. Wenn man jedoch bedenkt, daß die Vermehrung in den hohen Verdünnungen, wo schwache Reaktion auftritt, nur unbedeutend oder gleich Null ist, daß aber in den höheren Konzentrationen der Vermehrung jedenfalls recht enge Grenzen gezogen sind schon infolge der Agglutination (erschwerter Zutritt der Nährstoffe, sowie infolge der osmotischen Störungen, die die Bakterien bei der Suspension in physiologischer NaCl-Lösung, sowie beim Uebertragen ins Serum erleiden, sowie endlich — und das ist wohl das Wichtigste — daß die quantitativen Schwankungen der agglutinierbaren Substanz nach Eisenberg und Volk einen relativ geringen Einfluß auf das quantitative Absorptionsergebnis haben — wenn man dies alles in Erwägung zieht, wird wohl der Einwand von Neisser kaum mehr stark ins Gewicht fallen können. Neisser hätte übrigens vielleicht den Einwand fallen lassen, wenn er die Bemerkung von Eisenberg und Volk (p. 168) besser beachtet hätte, daß vorsichtig bei 58° abgetötete Bakterien dieselben Absorptionsverhältnisse bieten, wie lebende Bakterien. Diese auf Grund obiger Erörterungen wohl verständliche Tatsache genügt wohl, um die theoretischen Befürchtungen von Neisser zu entkräften. Als Beweis für die Richtigkeit dieser Anschauung können die Resultate der quantitativen Untersuchungen von Craw herangezogen werden, der bei Verwendung von lebenden Typhusbakterien, die er durch 3 Stunden bei 17° C auf das Serum einwirken ließ (wo also eine Vermehrung von Bakterien kaum

in Betracht kommt) die quantitativen Bindungsgesetze von Eisenberg und Volk bestätigen konnte. Endlich sei bemerkt, daß die in vorliegenden Untersuchungen benutzte Temperatur von  $42-55^{\circ}\text{C}$  die Möglichkeit einer Bakterienvermehrung während ihrer Einwirkung hintanhält, sowie daß die Temperatur von  $50-55^{\circ}\text{C}$  die Vitalität mancher Bakterien derart beeinträchtigt, daß auch eine nachträgliche Vermehrung dadurch unwahrscheinlich gemacht wird.

Die Agglutinationsproben wurden in kleinen, engen Eproutetten von 0,8—1,0 cm Durchmesser, 3—4 cm Länge angestellt. Die Serumverdünnungen sowohl als die Bakterienaufschwemmung wurden mittelst der Tropfenmethode aus einer Kapillarpipette abgemessen; bei einiger Einübung und bei entsprechender Form der Pipette (das Kapillarende langsam sich verjüngend, gerade abgeschnitten) können die daraus fließenden Tropfen als ungefähr gleich und die Meßmethode als für unsere Zwecke exakt genug betrachtet werden. Die Serumverdünnungen wurden gewöhnlich in geometrischer Reihe (Exponent = 2) aufgestellt, nur wo genauere Bestimmungen erwünscht schienen, wurden einander noch näher stehende Verdünnungen gewählt. Schon in meiner Arbeit „Ueber die Verwandtschaft der verschiedenen Dysenteriestämme“ habe ich bereits erwähnt, daß ich behufs der Beschleunigung der Reaktion, sowie der Beeinträchtigung der Bakterienvermehrung die Agglutinationsproben bei  $42^{\circ}\text{C}$  halte. Seit dem Erscheinen der interessanten Arbeit von Weil habe ich die darin vorgeschlagene Methode der Agglutinationsprüfung bei  $50-55^{\circ}\text{C}$  als die zweckmäßigste und am schnellsten zu einem orientierenden Urteil führende verwendet und immer gute Resultate davon gehabt. Es wird also die Probe 3 Stunden bei  $50-55^{\circ}$  gehalten, sodann bis zum Ablauf von 24 Stunden bei Zimmertemperatur. Es sollte meines Erachtens die Beobachtungszeit bei Agglutinationsversuchen unter keinen Umständen auf 1 Stunde bei Zimmertemperatur (Nicolle) oder  $2\frac{1}{2}$  Stunden bei  $37^{\circ}$  (Craw) oder 1 Stunde bei  $37^{\circ}$  (Kolle-Hetsch) herabgesetzt werden. Solche Methoden haben zwar den Vorteil der größeren Exaktheit und Sicherheit, wenn es sich um praktische Aufgaben der Serodagnostik handelt, dagegen wäre ihre Verwendung bei theoretischen Untersuchungen über den Mechanismus der Agglutination von großem Nachteil. Die Agglutination kann, zumal wenn einer der reagierenden Körper irgendwie modifiziert ist, langsam in Erscheinung treten und erst mit der Zeit ihr Maximum erreichen. Die Nichtberücksichtigung des Zeitfaktors könnte daher bezüglich mancher Fragen falsche oder einseitige Vorstellungen erwecken, was ich in voller Uebereinstimmung mit Dreyer und Jex-Blake hervorheben zu müssen glaube. Ich habe auch deshalb immer die Ergebnisse nach 24 Stunden aufgezeichnet, zuweilen sogar, wo es angezeigt erschien, auch nach 48, 72, 96 Stunden. Bei der quantitativen Wertbemessung des Agglutinins habe ich als Maß die von Eisenberg und Volk eingeführte Agglutinineinheit (Ag.-E.) benutzt; die Methode von Madsen, der einen beliebigen Grad von Agglutination (gewöhnlich einen höheren als unseren Grenzwert die unvollkommene Reaktion nach 24 Stunden) herausgreift, läßt sich nicht immer in Anwendung bringen, wie auch von Dreyer und Jex-Blake zugegeben wird. Craw hat bei Besprechung der Eisenberg-Volkschen Wertbemessungsmethode ihre theoretische Grundlage in Frage gestellt, nämlich die Annahme, daß, wenn z. B. ein 20000-fach verdünntes Impfserum eine Ag.-E. enthält, das konzentrierte Serum davon 20000 enthalten müsse, d. h. daß überhaupt keine Assozia-

tions- oder Dissoziationsvorgänge in den Agglutininmolekülen vorkommen. Meiner Ansicht nach lassen sich diese Vorgänge keineswegs ausschließen, jedoch halte ich es bei Bearbeitung eines so komplizierten Problems für angezeigt, vorderhand von den einfachsten Annahmen auszugehen und so lange dabei zu bleiben, bis etwa neue Tatsachen uns zwingen, sie umzuändern oder ganz fallen zu lassen. Ungerechtfertigt erscheint mir auch der Einwand, den Neisser gegen die Eisenberg-Volksche Wertbemessung erhoben hat, daß nämlich diese Methode beansprucht 1 Ag.-E. von 1,1 Ag.-E. zu unterscheiden, was nach Neisser unmöglich sein soll. In Wirklichkeit beruht diese Methode darauf, daß man in einer Reihe von aufeinanderfolgenden Verdünnungen diejenige zu ermitteln sucht, die in einer bestimmten Zeit (24 Std.) einen bestimmten Grad von Agglutination („unvollkommene“) zu stande bringt. Die Frage läuft also darauf hinaus, ob es möglich ist, diese „unvollkommene Agglutination“ von dem nächstfolgenden Grad der „starken Spur“ zu unterscheiden — und da steht nun Behauptung gegen Behauptung — die unserige, wonach dies möglich ist, und die auf Hunderte von Agglutinationsreihen gestützt ist, dürfte zum mindesten ebensoviel Glauben für sich beanspruchen, als die gegenteilige von Neisser.

Endlich möchte ich auf die Tatsache hinweisen, daß ich bei meinen Versuchen eine ganze Reihe von verschiedenen Bakterien-species verwendet habe (*B. typhi*, *B. dysenteriae*, Shiga-Kruse und Flexner, *B. paratyphi B.*, *B. enteritidis*, *B. erysipeladosum*, *B. pyocyaneum*, *B. fluorescens liquefaciens*, *B. fluorescens putidum*, *B. subtilis*, *Staphylococcus pyogenes aur.*) und andererseits eine ganze Reihe von Seris verschiedener normaler und immunisierter Tiere. Es war für mich dabei die Ueberzeugung maßgebend, die schon von Eisenberg und Volk geäußert worden war, daß es nicht genügt, den Mechanismus der Agglutination an einer bestimmten Bakterien-species zu studieren, wie bisher wohl meistens geschehen ist, daß vielmehr sowohl die agglutinierbare Substanz diverser Species, als auch die auf sie abgestimmten Agglutinine wie endlich die auf eine Species eingestellten Agglutinine, von verschiedenen Tierspecies stammend, in ihrem Aufbau gewisse Unterschiede aufweisen müssen, deren Erkenntnis für die Analyse des Mechanismus der Agglutination von Bedeutung sein muß. Die in dieser Richtung erlangten Aufschlüsse rechtfertigen, wie weiter unten gezeigt werden soll, diese Auffassung vollkommen, ebenso wie die analogen Erfahrungen von Pick, Weil, Bail und Porges. Auch wäre meiner Ansicht nach die Uebertragung vieler bei der Bakterienagglutination neuerdings gewonnener Kenntnisse auf die Lehre von den Hämagglutininen gewiß fruchtbringend, was in der nächsten Zeit in Angriff genommen werden soll.

## III.

### Ueber die Natur und den Bau der Agglutinine.

#### 1. Die Agglutinine als Eiweißkörper.

Trotz zahlreicher Untersuchungen, die das Wesen der Agglutinine zu ergründen suchten, kann diese Frage noch lange nicht als gelöst gelten. Wenn wir also exakt sein wollen, haben wir bisher nur das Recht, von einer Agglutinationsfunktion des Immunserums zu sprechen, und wenn wir das hypothetische materielle Substrat dieser Funktion als Agglutinin bezeichnen, so hat das nur die Bedeutung eines Symbols,

das uns logische Operationen mit diesem Begriff erleichtern soll. Die Untersuchungen von Widal und Sicard, Winterberg, Pick und Asakawa machen den Zusammenhang zwischen den Agglutininen und den Serumglobulinen wahrscheinlich; es konnte jedoch noch nicht entschieden werden, wie man sich diesen Zusammenhang denken soll. Die Ausfällungsgrenzen durch verschiedene Salze sind für beide gleich, ebenso ihr Verhalten gegenüber höherer Temperatur; in dem Maße, als die Globuline durch verschiedene Faktoren denaturiert werden, werden auch die Agglutinine des betreffenden Serums denaturiert. Sodann ist es bis jetzt nicht gelungen, die Agglutinine eiweißfrei zu isolieren — denn angesichts der hohen Aktivität dieser Stoffe kann wohl das Auffinden von Agglutininen in einem für unsere chemischen Methoden eiweißfreien Harn nicht als Beweis dafür angeführt werden, da sie eventuell an so minimale Eiweißmengen gebunden sein könnten, die dem chemischen Nachweis sich entziehen und nur durch ihre spezifische Funktion ihre Anwesenheit verraten. Es müssen aber noch dabei zwei wichtige Umstände berücksichtigt werden. Erstens, daß Agglutinine (wie wohl Antikörper im allgemeinen), die, wenn auch im Serum derselben Tierspecies enthalten, auf verschiedene Bakterien eingestellt sind, verschiedene Eigenschaften aufweisen resp. an verschiedene Eiweißkörper gebunden sein können. Pick hat gezeigt, daß das Typhusagglutinin im Pferdeimmunserum an das Pseudoglobulin, das Choleraagglutinin dagegen an das Englobulin gebunden erscheint, sodann daß das mit dem Englobulin ausgefällte Choleraagglutinin Temperaturen über  $65^{\circ}\text{C}$  nicht verträgt, während das Typhusagglutinin erst bei  $70\text{--}75^{\circ}\text{C}$  inaktiviert wird. In eigenen Versuchen konnte ich dieses Verhalten an frischen Immunseris bestätigen, indem das Choleraagglutinin bei  $65\text{--}70^{\circ}$  vollständig inaktiviert wird, während das Typhusagglutinin dabei nur abgeschwächt erscheint. Sodann zeigt sich das Choleraagglutinin des Pferdeimmunserums auch in Gegenwart einer konzentrierten  $\text{MgCl}_2$ -Lösung gegen Erhitzung empfindlicher als das Typhusagglutinin in demselben Serum. Eisenberg und Volk haben nämlich gezeigt, daß das letztere, mit 9 Teilen konzentrierter  $\text{MgCl}_2$ -Lösung gemischt, bei Erhitzung auf  $80\text{--}100^{\circ}\text{C}$  einen Teil seiner Wirkungskraft beibehält. Diese Tatsache konnte in neueren Versuchen von mir bestätigt werden, während ihre negative Kontrolle mit Normalpferdeserum unter denselben Bedingungen zeigte, daß die restliche Agglutinationskraft tatsächlich auf spezifische Agglutinine, nicht aber etwa auf chemische Agglutination durch Spuren von  $\text{HCl}$  zurückzuführen ist, die bei der Zersetzung von  $\text{MgCl}_2$  sich bilden könnten. Im Gegensatz dazu wird das Choleraagglutinin, mit  $\text{MgCl}_2$  auf  $80\text{--}100^{\circ}\text{C}$  erhitzt, vollständig inaktiviert, wenngleich das Serum dabei ebensowenig wie vorher koaguliert wird und ganz wasserklar bleibt. Bei wiederholter Untersuchung von Schweinerothlaufserum (2 und 3 Wochen nach der Blutentnahme vom Pferd), das ich der Liebenswürdigkeit des Herrn Doz. Dr. L. Detre-Deutsch in Budapest verdanke, konnte ich feststellen, daß dieses Serum, dessen Agglutinationskraft mit Ascitesbouillonkulturen geprüft,  $5000\text{ Ag.-E.}$  betrug, durch einstündiges Erhitzen auf  $60^{\circ}\text{C}$  inaktiviert wurde, wobei eine Umwandlung des Agglutinins zu Agglutinoid erfolgte (das Serum zeigte dabei keine sichtbare Veränderung). Hierher wären auch die Beobachtungen von Romberg und Thellung zu beziehen, wonach das Tuberkuloseagglutinin im menschlichen Serum bei  $56^{\circ}\text{C}$  inaktiviert wird, während das Typhusagglutinin in demselben Serum erst bei  $70\text{--}80^{\circ}$  dieses Schicksal erleidet.

Andererseits aber weisen verschiedene Beobachtungen darauf hin, daß dasselbe Agglutinin im Serum verschiedener Tierarten verschiedene Eigenschaften aufweisen kann. Es ist das ganz gut begreiflich, wenn wir einerseits den engen Zusammenhang berücksichtigen, der zwischen cellulärer Sekretion, oder allgemeiner gesprochen, cellulärem Stoffwechsel und Antikörperproduktion besteht und andererseits bedenken, daß die Verschiedenheit der Tierspecies nicht nur in einer verschiedenen Morphologie, sondern auch in der Verschiedenheit der biochemischen Organisation und ihrer Produkte ihren Ausdruck finden muß. Pick hat gefunden, daß im Pferdeimmunserum das Typhusagglutinin in der Pseudoglobulinfraktion, im Ziegen- und Kaninchenserum in der Euglobulinfraktion ausfällt. In manchen Fällen entspricht das differente Verhalten des Agglutinins in verschiedenen Seris der verschiedenen Wirkungsweise der höheren Temperatur auf die betreffenden Sera. So wird nach Laveran und Mesnil das Trypanosomenagglutinin im Rattenserum bei 62—63° C inaktiviert, weil das Rattenserum bei dieser Temperatur koaguliert. In eigenen Versuchen konnte ich konstant einen deutlichen Unterschied im Verhalten des Typhusagglutinins im Pferde- und Kaninchenserum feststellen. So zeigte ein Kaninchenimmunserum von einem Ag.-W. = 5000 Ag.-E nach 1-stündigem Erhitzen auf 75° C noch einen Ag.-W. = 200 Ag.-E. (das Serum war dabei 10-fach mit physiologischem NaCl verdünnt), nach weiterem 1-stündigen Erhitzen auf 77—80° C noch 20 Ag.-E. und erst nach weiterem einstündigen Erhitzen auf 80° C zeigte es sich ganz inaktiv, während Typhuspferdeserum schon bei 75° C nach 1 Stunde inaktiviert wird. In einem anderen Versuch zeigte ein Kaninchenserum (Ag.-W. = 20 000 Ag.-E.), das 1 Jahr in zugeschmolzenem Röhrchen aufbewahrt wurde, nach 1- sowie 2-stündigem Erhitzen auf 70° C einen unveränderten Wert, während ein gleichzeitig erhitztes Pferdeimmunserum (Ag.-W. = 25 000 Ag.-E.) schon nach 1/2-stündigem Erhitzen auf 70° C nur mehr 6000 Ag.-E., nach 1-stündigem 3000 Ag.-E. aufwies. Es wäre wohl recht interessant festzustellen, ob auch andere Agglutinine resp. Präzipitine in diesen beiden Serumarten analoge Unterschiede zeigen.

Sehr wichtig scheint mir sodann die Frage nach dem Verhalten von Normal- und Immunagglutininen gegenüber verschiedenen physikalischen und chemischen Faktoren. Auf Grund seiner Theorie hat Ehrlich die aprioristische Behauptung aufgestellt, Normal- und Immunantikörper seien identisch und die Unterschiede zwischen ihnen nur quantitativer Natur. Die experimentellen Untersuchungen in dieser Richtung lassen wohl die Aufstellung einer prinzipiellen Verschiedenheit nicht gerechtfertigt erscheinen, erlauben aber auch nicht die Identität zu behaupten. Kraus hat gefunden, daß das im Serum normaler Tiere enthaltene Antitoxin gegen das Gift des V. Nasik sich vom spezifischen durch seine geringere Affinität zum Gift unterscheidet. Eisenberg und Volk haben für normale Typhusagglutinine ein anderes Bindungsgesetz gefunden, als für die spezifischen, und in letzter Zeit haben Landsteiner und Reich Unterschiede in der Reversibilität der betreffenden Häm-agglutininverbindungen nachgewiesen. Ich selber habe seinerzeit ebenso wie Landsteiner und Calvo festgestellt, daß das Typhusagglutinin im normalen Pferdeserum am Euglobulin haftet, während es nach Pick im Immunserum in der Pseudoglobulinfraktion zu finden ist. Rodet behauptet, daß das in normalem Kaninchenserum enthaltene Typhusagglutinin bei 1-stündigem Erhitzen auf 55—58° C inaktiviert wird,

während das Immunagglutinin diese Temperatur schadlos verträgt. Die Behauptung von Rodet ist insofern nicht ganz einwandsfrei fundiert, als er die Agglutinationswirkung des erhitzten Serums nur in den Verdünnungen  $\frac{1}{4}$  und  $\frac{1}{10}$  untersucht hat. Das Nichtauftreten von Agglutination unter diesen Umständen beweist natürlich noch nicht eine Inaktivierung des Agglutinins, sondern nur eine Schwächung; um jene zu beweisen, müßte zum mindesten noch die Verdünnung  $\frac{1}{2}$  geprüft werden. Sodann müßte bei derartigen Versuchen meines Erachtens noch ein anderer Faktor mitberücksichtigt werden, der ihnen erst Beweiskraft verleiht und der von Rodet gar nicht erwähnt wird. Wenn man nämlich normale und Immunantikörper in Bezug auf ihr Verhalten gegenüber verschiedenen Faktoren untersucht, müssen beide Sera in derartigen Verdünnungen geprüft werden, daß ihr Gehalt an Antikörper gleich ist. Es wäre dabei erwünscht, wenn man die Verdünnung des Immunserums mit Normalserum derselben Art bewerkstelligen könnte, weil auf diese Weise das Medium für die Antikörper in beiden Proben ungefähr gleich wäre, doch läßt sich diese Forderung wegen der im normalen Serum meistens enthaltenen Antikörper wohl nur in den seltensten Fällen erfüllen. Endlich ist bei Beurteilung der Inaktivierungsversuche gerade dem Zeitfaktor eine besondere Aufmerksamkeit zuzuwenden, wie ich schon oben bei Besprechung der Technik erwähnt habe. In Uebereinstimmung mit Dreyer und Jex-Blake muß ich hervorheben, daß ein Serum, das nach 2-stündiger Beobachtung als inaktiv gelten müßte, bei Feststellung des Endresultats nach 24 Stunden sich als aktiv erweisen kann.

Meine eigenen Versuche mit Normalagglutinin betreffen die Agglutination von *B. typhi*, einem Stamm von *B. subtilis* (Stamm PS II, den ich dem liebenswürdigen Entgegenkommen des Herrn Doz. Dr. W. Silberschmidt in Zürich verdanke), sowie von *B. fluorescens putidum* Z., durch verschiedene Sera; nach Möglichkeit wurden dabei die oben erwähnten Faktoren berücksichtigt. Bei den Versuchen mit dem *Subtilis*-Stamm war das nicht ganz durchzuführen, da infolge spontaner Sedimentation dieser Bakterien die Beobachtungszeit nur selten über 3–7 Stunden hinaus ausgedehnt werden darf. Der Stamm PS II wird durch verschiedene Normalsera, und zwar von Meerschweinchen, Kaninchen, Hunden, Pferden, Ochsen Hühnern und Tauben agglutiniert, zum Teil sogar in hohen Verdünnungen. Das im normalen Meerschweinchenserum enthaltene Agglutinin wird nun bei  $\frac{3}{4}$ -stündigem Erhitzen auf 57–58° C inaktiviert; das Kaninchenserum verhält sich in dieser Richtung nicht immer gleich; unter 7 untersuchten Seris zeigten 4 eine beträchtliche Abschwächung der Agglutinine bei dieser Temperatur (von 80 Ag.-E. auf 2 Ag.-E. oder von 160 Ag.-E. auf 10 Ag.-E.), 3 behielten dagegen einen unveränderten Wert. Ein Pferdeserum zeigte eine bedeutende Herabsetzung des Agglutiningehaltes, ähnlich das Serum von einem Hund, sowie von 2 Ochsen. In Uebereinstimmung mit dieser Thermolabilität werden manche dieser Sera schon nach 2–7-tägigem Aufenthalt bei Zimmertemperatur unter Lichtabschluß beträchtlich geschädigt oder inaktiviert. Am deutlichsten zeigten diese hohe Empfindlichkeit zwei Sera von jungen Kaninchen, die 24 Stunden nach dem Aderlaß einen Wert von 200 resp. 10 Ag.-E. besaßen und 24 Stunden nachher sich in der Verdünnung  $\frac{1}{2}$  inaktiv zeigten; ein anderes Serum von einem jungen Kaninchen von einem Ag.-W. = 160 Ag.-E. zeigte sich nach 6-tägiger Aufbewahrung selbst in der Verdünnung  $\frac{1}{2}$  vollständig



inaktiv. In manchen Fällen war dieser spontane Abbau des Agglutinins nur fast vollständig (z. B. von 80 Ag.-E. auf 2 Ag.-E. nach 5 Tagen) oder mittelmäßig (von 80 Ag.-E. auf 10 Ag.-E. nach 7 Tagen) oder fast null (Sera mancher Meerschweinchen, Pferdeserum). Ein interessantes Resultat gaben zwei Meerschweinchensera und ein Kaninchenserum; nach 48 Stunden untersucht, zeigten sie eine bedeutende Abnahme der Agglutinationskraft, dagegen 72 Stunden nach dem Aderlaß war der Wert wieder gestiegen. Zur Illustration dieses Verhaltens, das ich vorderhand mir nicht zu erklären vermag, gebe ich das Resultat mit einem der Meerschweinchensera in folgender Tabelle I wieder.

Tabelle I.

Serum von normalem Meerschweinchen No. 2 vom 3. Juli 1905. Agaraufschwemmung von *B. subtilis* PS II. Beobachtet nach 30 Min., 1, 2, 7 Std.

Ser.-Verd.	Nach 6 Std.				Nach 48 Std.				Nach 72 Std.			
$\frac{1}{2}$	f. v.	f. v.	f. v.	v.	Fl.	f. v.	f. v.	v.	st. Sp.	f. v.	f. v.	f. v.
$\frac{1}{5}$	f. v.	f. v.	f. v.	v.	k.	f. Fl.	Fl.	f. v.	f. Fl.	f. v.	f. v.	f. v.
$\frac{1}{10}$	u. v. +	f. v.	f. v.	v.	k.	k.	f. Fl.	st. Sp.	Fl.	u. v. +	u. v. +	u. v. +
$\frac{1}{20}$	u. v.	f. v.	f. v.	v.	k.	k.	k.	Sp.?	Fl.	st. Sp.	u. v. +	u. v. +
$\frac{1}{40}$	st. Fl.	u. v. +	u. v. +	f. v.	k.	k.	k.	k.	f. Fl.	st. Sp.	u. v. +	u. v. +
$\frac{1}{80}$	st. Fl.	u. v. +	u. v. +	u. v. +	k.	k.	k.	k.	k.	k.	f. Fl.	st. Sp.
$\frac{1}{160}$	k.	st. Fl.	u. v.	u. v.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	Sp.
C	k.	k.	k.	Sp.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	Sp.?

Zeichenerklärung: v. = vollkommene (sc. Agglutination), f. v. = unvollkommene, st. Sp. = starke Spur, Sp. = Spur, Sp. ? = fragliche Spur, Fl. = Flocken, f. Fl. = feine Flocken, k. = keine, C = Kontrolle (S = 0).

Bezüglich der Typhusagglutinine in normalen Seris wäre folgendes zu berichten: Ein Kaninchenserum Ag.-W. = 40 Ag.-E. zeigte nach  $\frac{3}{4}$ -ständiger Erhitzung auf 58° C einen Ag.-W. von 5 Ag.-E., nach  $\frac{3}{4}$  Stunden auf 60° C von 2 Ag.-E. Unter denselben Umständen zeigt ein erhitztes Immunserum fast unverminderten Wert, und selbst bei  $\frac{1}{2}$ -ständiger Erhitzung von 65° C nur eine unbedeutende Abnahme (von 160 000 Ag.-E. auf 120 000 Ag.-E.). Außerdem zeigen die erhitzten Normalsera eine sehr verspätete Reaktion, die selbst nach 3 Stunden bei 50–55° C noch nicht zum Vorschein kommt, und erst nach 24 Stunden deutlich wird, wie folgende Tabelle II zeigt.

Tabelle II.

Pferdeserum (S. Er.) vom 13. August 1905.  $\frac{3}{4}$  Std. auf 58° C erhitzt. Agaraufschwemmung von *B. typhi* Z. Beobachtung nach 1 Std. (50° C), 3 Std. (50° C), 24 Std. (Zimmertemperatur).

S $\frac{1}{2}$	Fl.	st. Fl.	f. v.
$\frac{1}{5}$	k.	k.	u. v.
$\frac{1}{10}$	k.	k.	st. Sp.
$\frac{1}{20}$	k.	k.	st. Sp.
$\frac{1}{40}$	k.	k.	Sp. +
$\frac{1}{80}$	k.	k.	Sp. +
$\frac{1}{160}$	k.	k.	Sp.?
$\frac{1}{320}$	k.	k.	k.
C	k.	k.	k.

In ähnlicher Weise waren in einem Hundeserum von 40 Ag.-E. nach  $\frac{3}{4}$ -ständigem Erhitzen auf 60° C nur 5 Ag.-E. zurückgeblieben. Die Sera von 2 normalen Meerschweinchen, die Typhusbacillen nur schwach agglutinierten, zeigten sich durch  $\frac{3}{4}$ -ständiges Erhitzen auf 58° C nur unbedeutend geschwächt, während gleichzeitig das in ihnen enthaltene

Subtilis-Agglutinin vollständig inaktiviert wurde. Ein Kaninchenserum, das einzige, das zur Untersuchung gelangte, hat bei derselben Behandlung gar nichts von seinem Wert eingebüßt. Ein normales Pferdeserum endlich, das einen Ag.-W. für *B. fluorescens putidum* von 320 Ag.-E. aufwies, zeigte,  $\frac{3}{4}$  Stunden auf 60° C erhitzt, noch 80 Ag.-E.

Wenn wir alle diese Beobachtungen resumieren, sehen wir, daß die Agglutinine in frischen Normalseris (nach längerer Aufbewahrung zeigen nämlich auch Immunsera eine erhöhte Empfindlichkeit) unabhängig von ihrer Konzentration eine höhere Empfindlichkeit gegenüber Erhitzung (und wahrscheinlich auch anderen physikalischen und chemischen Faktoren) aufweisen, als die im Serum derselben Tierart enthaltenen Immunagglutinine. Es ist wohl unzulässig, darin ohne weiteres einen prinzipiellen Unterschied zwischen beiden Arten von Körpern erblicken zu wollen, denn ein solches Verhalten könnte ja auch eine Folge anderer neben-sächlicher Faktoren sein, die im Normal- oder Immunserum anwesend sein könnten. Andererseits aber wollen wir uns dadurch von einer vor-eiligen Identifikation dieser Körper warnen lassen, zumal wenn wir uns die oben angeführten Tatsachen vergegenwärtigen, die in demselben Sinne sprechen. Diese Beobachtungsweise wird weder durch die Versuche von Fordt erschüttert, worin gezeigt wird, daß die durch Injektionen von spezifischen Agglutininen erlangten Antiagglutinine auch auf normale Agglutinine einwirken und vice versa, noch durch den Befund von Scheller, daß die mit Normalagglutinoiden besetzten Bakterien der Wirkung von Immunagglutininen unzugänglich sind. Dieser Befund beweist ja nur (was Scheller auch selbst anerkennt), daß die bindenden Gruppen der normalen und Immunagglutinine identisch sein dürften, ohne daß dadurch die Identität beider Körper bewiesen wäre.

Wenn wir nun, auf das bisher Gesagte gestützt, uns über die Natur der Agglutinine Rechenschaft geben wollen, müssen wir uns vor allem vergegenwärtigen, daß die Benennung „Agglutinine“, die eigentlich nur ein hypothetisches Substrat einer Funktion bezeichnet, recht verschieden-artige Körper umfassen muß, denen sowohl die Natur des Faktors, der ihre Entstehung hervorruft, als auch ihre Beschaffenheit des Organismus, in dem sie gebildet werden, ihren Stempel aufdrücken. Wir können zwar nicht vorhersagen, ob die Eigenschaften, die sie jetzt in einem recht komplizierten Medium, wie das Serum zweifellos eins ist, aufweisen, in Zukunft auch an den rein isolierten Körpern werden festgestellt werden können — doch erlaubt schon jetzt ihr Verhalten gegenüber einem Faktor — der erhöhten Temperatur — eine gewisse Differenzierung. Vom Tuberkuloseagglutinin ausgehend, das bei 56° inaktiviert wird (Romberg, Thellung) bis zum Typhusagglutinin im Kaninchensimmunserum, das erst bei 80° C der Inaktivierung anheimfällt, haben wir eine ziemlich weite Skala variierender Empfindlichkeit gegen Erhitzung. Vor allem verdient meines Erachtens die Existenz von thermolabilen Agglutininen, zu denen außer dem Tuberkuloseagglutinin dasjenige für Schweinerotlaufbacillen im Pferdeserum, sowie für *B. subtilis* im Meerschweinchenserum besondere Beachtung. Ebenso wie für die Komplemente (Alexine) festgestellt werden konnte, daß neben den typisch bei 55° C inaktivierbaren es auch sehr empfindliche gibt, die schon bei 48–50° C und sogar bei 42° C (im Froschserum nach Lazar) und andererseits wiederum sehr thermostabile, wird man wohl auch bezüglich der Agglutinine die allgemein gehaltene Behauptung, daß sie bei 70 bis 75° C inaktiviert werden, einschränken müssen, indem man die Mög-

lichkeit von Schwankungen nach beiden Seiten hin zugibt. Besonders auffallend ist das Verhalten des normalen Kaninchenserums, das in manchen Fällen ein thermolabiles Agglutinin (bei 58° C inaktivierbar) und ein bei dieser Temperatur und darüber hinaus stabiles Bakteriolyisin enthalten kann <sup>1)</sup>, also das Umgekehrte davon, was als typisch gilt. Weiter muß bemerkt werden, daß bis jetzt die Empfindlichkeit der Agglutinine hauptsächlich in Bezug auf jene Temperatur untersucht wurde, bei der sie vollständig inaktiviert werden — ein gewiß einseitiger, wenn auch praktischer Feststellung gut zugänglicher Gesichtspunkt. Wenn wir aber bedenken, daß es meistens eine Zone von 10—15° unterhalb dieses Punktes gibt, in deren Bereich die Agglutinine teilweise inaktiviert oder abgeschwächt werden und zwar proportional der Temperaturerhöhung, so erhebt sich wohl mit Recht die Frage, ob wir ein bestimmtes Agglutinin in einem bestimmten Serum en bloc als untrennbares Ganzes betrachten dürfen oder ob wir es uns als aus differenten Teilen zusammengesetzt vorstellen sollen, die trotz eines ähnlichen Baues und analoger Funktion eine verschiedene Empfindlichkeit aufweisen (etwa nach Art der homologen Verbindungen der organischen Chemie nach dem zutreffenden Vergleich von Landsteiner). Manche Beobachtungen bezüglich der Hemmungserscheinungen in frischen Seris, die weiter unten erwähnt werden sollen, scheinen für die Existenz solcher Partialagglutinine von verschiedenem Empfindlichkeitsgrad zu sprechen.

Endlich erübrigt es sich noch, einige Bemerkungen über den schon erwähnten Zusammenhang zwischen Agglutininen und Eiweißkörpern des Serums anzuschließen. Die Möglichkeit, manche Agglutinine schon bei Temperaturen zu inaktivieren, die gar keinen Einfluß auf die betreffenden Eiweißkörper zu üben scheinen, könnte vielleicht gegen diese Annahme ins Feld geführt werden, aber mit Unrecht. Schon in meiner Präzipitinarbeit habe ich hervorgehoben, daß selbst bei 49—60° C im Eiweißmolekül Veränderungen vor sich gehen können, die seine physikalischen Eigenschaften nicht sichtbar ändern und dennoch genügen, um die spezifische Funktion gewisser Antikörper unmöglich zu machen, die entweder selber einen Teil des betreffenden Eiweißkörpers ausmachen oder auf irgend welche Weise mit ihnen verbunden sind. Diese vorläufig rein theoretische Annahme fand eine Bestätigung durch den interessanten Versuch von Dieudonné, welcher zeigte, daß schon von 45° C angefangen das nicht sichtbar veränderte Eiweiß derart umgestimmt ist, daß es auf Zusatz kleinster Mengen von Milchsäure ausfällt, was unerhitztes Eiweiß nicht tut. Andererseits hat Mohl nachgewiesen, daß bei denselben Temperaturgraden ein Teil des Albumins in Globulin übergeht, daß also auch diese geringen Einwirkungen das Eiweiß verändern, ohne seine Koagulation herbeizuführen. Es folgt daraus für uns, daß die Koagulation der Eiweißkörper schon der Ausdruck einer tiefgreifenden Veränderung im Eiweißmolekül ist, der immer geringfügigere Umsetzungen vorausgehen, die genügen, die spezifische Funktion der Agglutinine resp. anderer Antikörper zu vernichten. Für den Zusammenhang dieser Antikörper und den Eiweißkörpern des Serums spricht weiter die von mir erhobene Tatsache, daß in trockenem Zustande Agglutinine und Präzipitine eine Erhitzung auf 100° vertragen, um erst bei 135° C inaktiviert zu werden entsprechend dem bekannten Verhalten der Eiweißkörper, die in trockenem Zustande erst bei 135° nicht aber bei 100° denaturiert werden. Andererseits hat Zusatz von koagulationshemmenden

1) Für *B. subtilis*.

Agentien und zwar von Formol oder Harnstoff (Pick) oder gesättigtem  $MgCl_2$  (Eisenberg und Volk) zum Serum zur Folge, daß selbst bei  $100^\circ C$  manche Antikörper teilweise ihre Funktion behalten. Schwächer wirkt in dieser Richtung nach meinen neueren Versuchen der Milchsucker; ein Typhusserum vom Pferd (Ag.-W. = 5000 Ag.-E.) mit 9 Teilen konz. wässriger Lösung dieses Zuckers vermischt und 1 Stunde auf  $75^\circ C$  erhitzt, ergab einen Ag.-W. = 600 Ag.-E., auf  $80^\circ C$  erhitzt, erwies es sich als vollkommen inaktiv, wenngleich dabei nicht eine Spur von Koagulation eintritt. Diese Tatsache spricht wiederum dafür, daß die Koagulation der Eiweißkörper nicht die einzige Veränderung ist, die eine Inaktivierung der Eiweißkörper herbeiführen kann.

Solange wir bis nun den Einfluß höherer Temperatur auf die Aktivität der Agglutinine besprochen haben, wurde immer nur die Einwirkung dieses einen Faktors auf sonst möglichst unveränderte, frische Sera berücksichtigt. Wenn wir dagegen durch längere Aufbewahrung bei Zimmertemperatur unter Luft- resp. Lichtzutritt oder durch verschiedene konservierende Zusätze (Karboll, Chloroform) modifizierte Sera ihrer Einwirkung unterwerfen, werden wir feststellen, daß unter diesen Bedingungen die Agglutinine bedeutend empfindlicher sind oder mit anderen Worten, daß verschiedene inaktivierende Faktoren ihre Wirkungen summieren können, so daß zwei Einwirkungen, an sich unzureichend, um das Agglutinin zu inaktivieren, vereint diese Wirkung erreichen. So z. B. zeigte ein unter Chloroformzusatz  $\frac{1}{2}$  Jahr aufbewahrtes Serum (Ag.-W. = 3000 Ag.-E.) nach einstündigem Erhitzen auf  $61-63^\circ C$  nur mehr einen Wert von 60 Ag.-E., in einem anderen Versuch wurde dasselbe Serum durch einstündiges Erhitzen auf  $62$  bis  $63^\circ C$  inaktiviert. Ein Ruhrserum (für den Typus Shiga-Kruse), das ich dem liebenwürdigen Entgegenkommen des pharmazeutischen Laboratoriums L. W. Gaus in Frankfurt a. M. verdanke, das 5 Monate lang mit 0,5 Proz. Karbolzusatz konserviert wurde (Ag.-W. = 1200 Ag.-E.) wurde durch einstündiges Verweilen bei  $60^\circ C$  vollkommen inaktiviert. Nach 16-monatiger Aufbewahrung wurde dasselbe Serum schon nach  $\frac{1}{2}$  Stunde bei  $56-57^\circ C$  inaktiv, erwies sich also deutlich thermolabil.

Hier wird es wohl am Platze sein, einige Versuche anzuführen, die auf den Zusammenhang zwischen den Eiweißkörpern der Sera und ihren spezifischen Funktionen ein gewisses Licht werfen. Wir wissen, daß im Serum neben den Globulinen, an die die spezifischen Funktionen gebunden sind und deren Koagulationspunkt um  $75^\circ C$  herum liegt, auch Albumine enthalten sind, die schon bei niedrigeren Temperaturen koaguliert werden (nach verschiedenen Autoren bei  $64-72^\circ C$ ). Da nun die Koagulation des Serums ein allmählich durch verschiedene Phasen verlaufender Prozeß ist, der anfangs im Stadium des „Gelatinierens“ noch zum Teil reversibel sein kann, gelingt es zuweilen vorzugsweise bei anderweitig schon modifizierten Seris (durch Chloroform- oder Karbolzusatz, Entwicklung von fluorisierenden Bakterien) die Koagulation an einem Punkt zu unterbrechen, wo das leicht koagulierte, aber noch durchsichtige Serum nach Zusatz von physiologischer  $NaCl$ -Lösung teilweise oder vollständig wieder in Lösung geht. Man wird wohl annehmen müssen, daß dabei erst die Albumine teilweise oder vollständig koaguliert wurden, nicht aber die Globuline, und in Uebereinstimmung damit zeigt die durch Lösung des Koagulums gewonnene Flüssigkeit eine unverminderte oder wenigstens zum Teil erhaltene Agglutinationskraft. In ähnlicher Weise wird sich wohl der Mechanismus der Einwirkung

von Karbol auf agglutinierende Sera erklären lassen. Wenn wir zu 4 Teilen Typhusserum einen Teil 5-proz. Karbollösung zusetzen, entsteht ein flockiger Niederschlag, während die Agglutinationskraft des Serums keine Einbuße erleidet; dasselbe Verhalten zeigt das Serum mit gleichen Teilen 5-proz. Karbols versetzt, wobei ein kompakter Niederschlag die Hälfte des Flüssigkeitsvolumens ausfüllt. Wenn man dagegen zu einem solchen Serum das gleiche Volumen von verflüssigter Karbolsäure (90 Proz.) zusetzt, gerinnt fast das ganze Gemisch und die spärliche, kaum opalisierende Flüssigkeit über dem Koagulum zeigt sich fast agglutininfrei. Auch hier ergibt sich als wahrscheinliche Erklärung, daß das Karbol in geringerer Konzentration Albumin und erst in größerer auch das Globulin und mit ihm zusammen das Agglutinin fällt.

Endlich sei noch nebenbei eine Beobachtung angeführt, die weitere Bestätigung erheischt. Von der Tatsache ausgehend, daß Serum desto leichter gerinnt, je konzentrierter es ist, habe ich ein Typhuskaninchen-serum (Ag.-W. = 5000 Ag.-E.) in Verdünnung  $\frac{1}{10}$  und  $\frac{1}{100}$  in physiologischer NaCl-Lösung 1 Stunde lang auf  $75^{\circ}\text{C}$  erhitzt. Die erste Verdünnung zeigte danach einen Wert von 130 Ag.-E., die zweite einen von 600 Ag.-E. Es hat demnach den Anschein, als ob Agglutinine in konzentrierteren Lösungen leichter inaktiviert würden, als in verdünnten; damit würde auch die Beobachtung von Dreyer und Jex-Blake stimmen, wonach bei Erhitzen von Coliimmunseris eine desto breitere Hemmungszone entsteht, je konzentrierteres Serum erhitzt wurde.

(Schluß folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Ueber die Adsorption von Eiweisskörpern und über Agglutininverbindungen.

[Aus dem patholog.-anatomischen Institut (Vorstand: Prof. A. Weichselbaum) in Wien.]

### II. Mitteilung.

Von Dr. Karl Landsteiner und Dr. Radenko Stanković.

#### I.

In einer vorhergehenden Mitteilung<sup>1)</sup> wurden die Resultate von Versuchen über die Adsorption<sup>2)</sup> von Eiweiß durch anorganische pulverförmige Substanzen mitgeteilt und Differenzen der aufgenommenen Mengen je nach der Art der adsorbierenden Körper und der verwendeten Eiweißlösungen beobachtet. Die Abhängigkeit der Adsorption von der chemischen Natur der adsorbierenden Substanzen und die Art der Abhängigkeit führten zu der Annahme, daß bei den untersuchten Vorgängen chemische Reaktionen mitwirken, was nicht damit in Widerspruch steht, in diesen Fällen elektrische Anziehungskräfte als wirksam zu betrachten<sup>3)</sup>.

1) Dieses Centralbl. Bd. XL. 1905. p. 265.

2) Die Ausdrücke Adsorption oder Absorption sind hier synonym gebraucht und sollen zunächst nichts über die Natur der zu untersuchenden Prozesse bestimmen.

3) Vergl. Münch. med. Wochenschr. 1904. No. 27 (cf. die Untersuchungen von Pauli und Biltz).

Im Anschluß daran haben wir nun Versuche ausgeführt, in denen als adsorbierendes Material feste, zumeist proteinartige Substanzen, nämlich koaguliertes Serumeiweiß, getrocknetes Fibrin, Kasein<sup>1)</sup>, entbastete und gewaschene Seide, Stärke verwendet wurde, und zwar, mit Ausnahme der Seide, in gut verriebenem Zustande. Die zu adsorbierenden Lösungen waren solche von Serumglobulin, verdünntem Blutserum, Abrin und Ricin.

Diese letzteren waren durch Extrahieren der entfetteten Samen mit 1-proz. Kochsalzlösung, Ausfällen mit Ammonsulfatlösung und Auflösen des Niederschlages in 1-proz. Kochsalzlösung hergestellt. Da bei der Verwendung von Kasein als Adsorbens dieses zum Teil in Lösung geht, benutzten wir, wo dieser Umstand in Betracht kam, ein vorher mit Formaldehyd behandeltes Kasein. Es wurde zur Herstellung dieses Präparates Kasein mehrere Tage lang mit einem Ueberschuß von 4-proz. Formaldehydlösung behandelt, dann gut mit Wasser gewaschen und getrocknet. Von den festen Körpern wurden je 2 g mit 20 ccm der Lösungen durch 15 Minuten unter mehrmaligem Umschütteln oder Umrühren beisammen gelassen, die Lösungen dann abgegossen und klar filtriert. Zur annähernden Bestimmung des Eiweißgehaltes der Lösungen wurde die Esbachsche Methode, zur Bestimmung des Agglutiningehaltes des Abrins, Ricins und der Blutsera der Vergleich der mit den Lösungen erzielten Agglutinationseffekte (für Gansblutkörperchen) in einer Reihe von Proben mit bis zur Grenze der Wirksamkeit abgestuften Zusätzen verwendet.

Es zeigte sich so, daß Lösungen von Serum-Euglobulin und Pseudoglobulin mit einem Eiweißgehalt von 1—2 ‰ an Kasein, Fibrin, koaguliertes (gleichartiges und von anderen Tierarten herrührendes) Serumeiweiß, sowie an Stärke und Seide keine mit der angewendeten Methode<sup>2)</sup> sicher nachweisbare Mengen von Eiweiß abgaben. Es kann also die Aufnahme von Eiweiß durch diese Stoffe gewiß nicht beträchtlich sein.

Bei dem mit Formaldehyd behandelten Kasein ließ sich eine Eiweißaufnahme nachweisen.

Es adsorbierte z. B. aus einer 0,95 ‰ Euglobulinlösung (Rind) 26 Proz. der Eiweißmenge. Zur Sicherung des Resultates wurde eine Euglobulinlösung von 0,8 ‰ viermal hintereinander in der gleichen, gewöhnlich geübten Weise mit Formaldehyd-Kasein behandelt. Die Eiweißverluste betrugen successive 12, 25, 37, 50 Proz. des ursprünglichen Gehaltes.

Ein anderes Resultat als die eben beschriebenen Versuche gab die Behandlung von Abrin- und Ricinlösungen mit festen Proteinsubstanzen. Es zeigte sich, daß Kasein, ferner feuchtes koaguliertes Serumeiweiß, getrocknetes Fibrin beträchtliche Mengen von Abrin- und Ricineiweiß bezw. agglutinierender Substanz aufnehmen. Es hängt dieses Verhalten sicherlich mit der Eigenschaft der genannten Phytotoxine zusammen, in entsprechender Konzentration mit verschiedenen Eiweißlösungen, deren wir eine Anzahl untersuchten, unter Niederschlagsbildung zu reagieren<sup>3)</sup>.

1) Cas. pur. Hammarsten (Merck).

2) Auf in Lösung gegangenes Eiweiß wurde Rücksicht genommen, doch konnte dadurch beim Kasein eine geringe Absorption der Beobachtung entgehen.

3) Frühere derartige Beobachtungen über Eiweißfällungen finden sich bei Stillmark, Arb. pharm. Inst. Dorpat. Bd. III. 1889. Vergl. dagegen Lau, Diss. Rostock. 1901.

## Versuchsbeispiele:

Eiweißgehalt der Abrinlösung in Promillen	Adsorption durch	Eiweißabnahme in Prozenten
0,7	Kasein	90
0,4	"	100
1,0	Fibrin	25
0,8	"	35
0,8	Formaldehyd.-Kasein	50
0,8	"	43

Die Aufnahme agglutinierender Substanz wird durch die folgende Tabelle dargestellt.

Eiweißgehalt der Abrinlösung in Promillen <sup>1)</sup>	Adsorption durch	Agglutininabnahme in Prozenten
2,1	Kasein	50
0,7	"	90
0,4	"	90
0,02	"	100
0,7	Fibrin	20
0,4	"	20—30
0,04	"	50—75
0,8	Formaldehyd.-Kasein	50
0,35	"	50
0,02	Serumeiweiß feucht	33
0,2	Seide	50
0,02	"	90—100

Soweit die hier angewendeten Methoden zu einer quantitativen Beurteilung hinreichen, ergab sich auch eine annähernde Uebereinstimmung der von den verschiedenen Substanzen adsorbierten Eiweiß- und Agglutininmengen, so daß durch diese Beobachtungen die Annahme der Eiweißnatur der Abrinagglutinine gestützt wird<sup>2)</sup>. Jedenfalls verhält sich das Abrineiweiß und das Eiweiß des Ricins<sup>3)</sup> bei der Behandlung mit festen Proteinsubstanzen wesentlich anders als andere Eiweißkörper und es ist nicht anzunehmen, daß dieses besondere Verhalten und die agglutinierenden und präzipitierenden Wirkungen der Substanzen voneinander unabhängig sein sollten.

Die Aufnahme von Abrin- und Ricinagglutinin ließ sich außer durch die schon angegebene Methode auch leicht derart nachweisen, daß die mit Abrin oder Ricin behandelten Stoffe mit 1-proz. NaCl-Lösung gut gewaschen und nachher in solcher Kochsalzlösung gelinde z. B. auf 45° erwärmt wurden. Es geben dann diese Körper, wie Kasein, Formaldehyd-Kasein, koaguliertes Serumeiweiß, Seide, Fibrin leicht erkennbare Mengen von agglutinierender Substanz an die Lösung ab.

1) Eine Abrinlösung von 1‰ Eiweiß agglutinierte in 500-facher Verdünnung eben noch die doppelte Menge 5-proz. gewaschener Gänseblutauflschwemmung.

2) Bezüglich der toxisch wirkenden Komponente des Ricins und Abrins wiesen Jacoby und Hausmann nach, daß sie sich durch Verdauung vom Eiweiß abtrennen lasse. Diese Beobachtung ist vorläufig noch nicht auf die Agglutinine zu übertragen, und es wäre möglich, daß auch die toxische Komponente im ursprünglichen Präparat sich in einem eiweißartigen Komplex befände und erst durch die Verdauung toxisch wirkende abiuerte Körper entstünden (vergl. die Untersuchungen von Obermayer und Pick).

3) Die Versuche mit Ricin ergaben ganz analoge Resultate, wie die mit Abrin, und sind der Kürze halber nicht besonders angeführt.

Die Reaktion entspricht vollkommen der früher von uns ausgeführten Abspaltung von Agglutininen aus agglutinierten Blutkörperchen durch Erwärmen<sup>1)</sup>.

### Versuchsbeispiel:

Kolumne 1 gibt die hämagglutinierende Wirkung der letzten Waschlösung der mit Ricinlösung von 1%<sub>100</sub> Eiweißgehalt behandelten Substanzen an. Kolumne 2 die Wirkung der mit den Substanzen  $\frac{1}{4}$  Stunde auf 45° erwärmten Kochsalzlösung.

	1	2
Kasein	0	stark
Formaldehyd-Kasein	schwach	"
Fibrin	Spur	"
Koagul. Serumeiweiß, feucht	0	sehr stark
Seide	0	deutlich

Die erwähnten mit den agglutinierenden Stoffen behandelten festen Substanzen geben diese nicht nur beim Erwärmen, sondern ebenso wie agglutinierte Blutkörperchen, auch bei der Behandlung mit schwachen Laugen und Säuren ab, so daß auch in dieser Richtung Uebereinstimmung besteht<sup>2)</sup> <sup>3)</sup>.

Da es sich in den angeführten Versuchen zeigte, daß die Lösungen der agglutinierenden Pflanzeiweiße sich proteinartigen Stoffen gegenüber ganz verschieden verhalten als andere Eiweißlösungen (Serumglobulin und Albumin), so war es naheliegend, das Verhalten der agglutinierenden Substanzen überhaupt in dieser Richtung zu untersuchen. Wir behandelten zu diesem Zweck verdünnte hämagglutinierende Normalsera mit den festen Proteinstoffen und bestimmten vor und nach der Behandlung den Agglutiningehalt durch Feststellung der Wirksamkeitsgrenze.

Es ergab sich, daß, obwohl diese Substanzen Serumeiweiß nicht in leicht merklicher Menge aufnehmen, sie doch Agglutinine in beträchtlichem Ausmaße zu absorbieren vermögen.

So nahm aus Pferdeserum, das auf das 10-fache mit Kochsalzlösung verdünnt wurde, Kasein etwa 75 Prozent des Hämagglutinins (für Gänseblut) auf, koagulierte Eiweiß absorbierte geringere, aber noch immer deutlich erkennbare Mengen.

Auch die absorbierten Serumagglutinine ließen sich aus dem damit beladenen und nachher mehrmals kalt mit Kochsalzlösung gewaschenen Kasein, Formaldehyd-Kasein und anderen Substanzen durch Erwärmen mit Kochsalzlösung auf 45° zum Teil wiedergewinnen. Die Versuche wurden mit gleichem Resultat mit Rinder-, Pferde- und Schweineserum ausgeführt, ferner mit solchen agglutinierenden Lösungen, die durch Abspalten aus agglutinierten Blutkörperchen beim gelinden Erwärmen mit Kochsalzlösung hergestellt worden waren.

Die Aufnahme von Immunhämagglutininen durch die genannten Eiweißkörper ließ sich nicht feststellen, kann also nicht irgendwie beträchtlich sein.

Es ist demnach in den bisher angestellten Versuchen das Verhalten

1) Münch. med. Wochenschr. 1902. 1903. Dieses Centralbl. Bd. XXXIX. p. 82.

2) Hahn und Trommsdorf, Abspaltung von Bakterienagglutininen. (Münch. med. Wochenschr. 1900.

3) Münch. med. Wochenschr. 1904. No. 27. Die hier gemachte Angabe, daß die Abrinblutkörperchenverbindung durch Säuren leichter zerlegbar ist als durch Alkalien, bedarf einer Revision.



ein derartiges gewesen, daß mit wachsender Spezifität der Agglutinine (Abrin, Ricin → normale Serumagglutinine → Immunagglutinine) die Eigenschaft von den angewendeten Proteinsubstanzen aufgenommen zu werden abnahm. Diese leicht verständliche Regel, daß Agglutinine, die für Proteinsubstanzen im allgemeinen starke Affinität haben, keine stark hervortretende Spezifität zeigen, daß spezifische Agglutinine hingegen ein geringes Bindungsvermögen für Eiweiß überhaupt besitzen, bestätigte sich auch innerhalb der Gruppe der pflanzlichen Toxalbumine.

Während Abrin und Ricin auf alle bisher untersuchten Blutarten wirken, beeinflußt Croton verhältnismäßig wenige Arten von Blutkörperchen. Es steht nach dem Gesagten damit in Einklang, daß bei Absorptionsversuchen mit Croton, die analog angestellt waren, wie die oben referierten, die Aufnahme von Croton durch einige Proteine sehr gering war.

In den angeführten Versuchen hatte es sich gezeigt, daß den Eiweißstoffen der Abrin- und Ricinlösungen eine beträchtliche Affinität für andere Proteine zukommt (die sich, wie erwähnt, auch in der präzipitierenden Wirkung dieser Lösungen äußert). Die daraus mit Wahrscheinlichkeit zu folgernde Annahme, daß die Eiweißkörper der Lösungen selbst agglutinierende Eigenschaften besitzen, haben wir durch die folgende Versuchsanordnung zu stützen getrachtet. Es wurden Abrinlösungen außer mit den schon früher verwendeten organischen nun auch mit anorganischen adsorbierenden Substanzen behandelt und die aufgenommenen Agglutinin- und Eiweißmengen schätzungsweise verglichen. Wieder zeigte sich eine annähernde Uebereinstimmung, die bis zu einem gewissen Grade für die gemachte Voraussetzung spricht.

#### Versuche:

20 ccm Abrinlösung mit einem Eiweißgehalt von 0,8‰ werden mit 2 g Kaolin behandelt.

Eiweißverlust	nach der Adsorption	37 Proz.
Agglutininverlust	„ „ „	25—50 „

120 ccm einer Abrinlösung von 0,6‰ Eiweißgehalt werden 5mal hintereinander mit Kaolin behandelt, derart, daß das Gemisch nach jeder Behandlung klar abfiltriert wird. Das Verhältnis der Mengen von Lösung und Kaolin ist dasselbe wie im ersten Versuch. Es ergibt

das 1. Filtrat einen	Eiweißverlust	von	25	Proz.
„ 1. „ „	Agglutininverlust	„	25—50	„
„ 4. „ „	Eiweißverlust	„	fast 100	„
„ 4. „ „	Agglutininverlust	„	90—100	„
„ 5. „ „	Eiweißverlust	„	100	„
„ 5. „ „	Agglutininverlust	„	100	„

In ganz ähnlicher Weise wird eine 0,7‰ Eiweiß enthaltende Abrinlösung 3mal hintereinander mit geschlemmter Kreide behandelt. Mengenverhältnisse wie früher. Es ergibt

das 1. Filtrat einen	Eiweißverlust	von	28	Proz.
„ 1. „ „	Agglutininverlust	„	fast 50	„
„ 2. „ „	Eiweißverlust	„	56	„
„ 2. „ „	Agglutininverlust	„	50—75	„
„ 3. „ „	Eiweißverlust	„	100	„
„ 3. „ „	Agglutininverlust	„	fast 100	„

Abrinlösung mit 0,7‰ Eiweißgehalt wird mit Tierkohle digeriert. Nach Digestion von 20 ccm der Lösung mit 2 g Tierkohle resultiert ein

Eiweißverlust von 100 Proz.

Agglutininverlust „ 100 „

Es werden 20 ccm der Lösung mit 1 g Tierkohle behandelt. Nun ergibt sich ein

Eiweißverlust von fast 100 Proz.

Agglutininverlust „ „ 100 „

Bei der Behandlung von 20 ccm der Lösung mit 0,5 g der Kohle findet sich ein

Eiweißverlust von 28 Proz.

Agglutininverlust „ 50 „

## II.

Von der Ansicht<sup>1)</sup> ausgehend, daß die beschriebenen Reaktionen zwischen Agglutininen und Eiweißstoffen und somit auch die Bindung von Abrin an Blutkörperchen den Färbungen des Eiweißes mit organischen Farbstoffen sehr nahe verwandt sind, haben wir versucht, die Aufnahmefähigkeit der Proteine für das Abrin zu modifizieren. Wir schlossen uns an Versuche an, die Suida<sup>2)</sup> vor kurzem in einer Abhandlung: „Ueber den Einfluß der aktiven Atomgruppen in den Textilfasern auf das Zustandekommen von Färbungen“ mitgeteilt hat. Suida zeigte, daß durch Behandeln von Schafwolle mit Acetylchlorid, Acetanhydrid oder alkoholischer Schwefelsäure, ferner durch Behandeln von Seide mit alkoholischer Schwefelsäure die Fähigkeit dieser Stoffe, sich mit basischen Farbstoffen färben zu lassen, vermindert oder aufgehoben wird. Durch Behandeln mit Alkalien wurde das ursprüngliche Verhalten der Fasern wiederhergestellt. Suida bezieht diesen Effekt auf eine Acylierung oder Anhydrierung saurer Atomgruppen, deren intakter Bestand für die Bindung der Farbbasen an die Fasern notwendig ist. Es ergibt sich aus diesen Versuchen eine Bestätigung der Ansicht, daß die Färbungen von Schafwolle und Seide auf der Entstehung salzartiger Verbindungen zwischen Fasern und Farbstoff beruhen. Zu einer analogen Schlußfolgerung hatten quantitative Untersuchungen über die Aufnahme von Farbbasen durch saure Silikate geführt.

Wir gingen in ähnlicher Weise vor wie Suida und untersuchten das Aufnahmevermögen von Kasein (und Seide) nach verschiedenartigen chemischen Eingriffen. Gleichzeitig verglichen wir das Absorptionsvermögen der ursprünglichen und der veränderten Substanz für basische und saure Farbstoffe.

Es ließ sich nun leicht feststellen, daß durch verschiedene Verfahren die Aufnahmefähigkeit des Kaseins für Abrin sich vermindern oder aufheben läßt. Eine geringe Verminderung beobachteten wir schon beim Kochen mit Wasser und beim Behandeln mit verdünnten wässrigen Säurelösungen.

Eine stärkere Beeinflussung der Bindungsfähigkeit wurde durch Erwärmen mit 0,5-proz. alkoholischer Schwefelsäure oder durch Behandeln mit Acetanhydrid, fast völlige Aufhebung des Absorptionsvermögens durch Behandeln mit Acetylchlorid erzielt. Wenn das mit Acetylchlorid hergestellte Produkt der Einwirkung von warmer verdünnter Ammonium-

1) Vergl. unsere zit. Mitteilungen.

2) Sitzungsber. d. kais. Akad. d. Wissensch. in Wien. Math.-naturw. Klasse. Bt. CXIV. Abt. 2b. Januar 1905 und Mai 1905 (Suida und Gelmo).

karbonatlösung unterworfen wurde, so ließ sich das Aufnahmevermögen für Abrin zum größten Teile wieder restituieren.

#### Versuche:

- 1) Kasein.
- 2) Kasein 8 Stunden lang mit Alkohol gekocht und getrocknet.
- 3) Kasein 5 Tage lang mit der 10-fachen Menge von Acetanhydrid bei Zimmertemperatur behandelt, dann mit Aether, Alkohol und destilliertem Wasser lange bis zum Verschwinden der saueren Reaktion in der Waschflüssigkeit gewaschen, getrocknet.
- 4) Kasein 8 Stunden mit der 20-fachen Menge 0,5-proz. alkoholischer Schwefelsäure auf dem Wasserbade digeriert, dann mit Alkohol, Wasser, verdünntem Ammoniumkarbonat, Wasser säurefrei gewaschen und getrocknet.
- 5) Kasein mit der 20-fachen Menge 0,5-proz. wässriger Schwefelsäure 24 Stunden lang behandelt, dann mit Wasser säurefrei gewaschen.
- 6) Kasein 7 Tage lang mit der 10-fachen Menge von Acetylchlorid unter Luftabschluß bei Zimmertemperatur behandelt, dann mit trockenem Aether und wie sub 4 gewaschen.
- 7) Präparat 6 nach dem Trocknen mit der 100-fachen Menge 1-proz. wässriger Ammoniumkarbonatlösung 24 Stunden bei Zimmertemperatur digeriert, dann mit Wasser bis zum Verschwinden der alkalischen Reaktion gewaschen.

8) Präparat 6 mit derselben Menge 1-proz. Ammoniumkarbonatlösung am Wasserbad erwärmt, bis der größte Teil in Lösung gegangen ist, dann filtriert, das Filtrat mit verdünnter Salzsäure ausgefällt, der Niederschlag mit destilliertem Wasser säurefrei gewaschen.

Alle Präparate wurden nach dem Trocknen gut verrieben.

Die Behandlung mit Abrin geschah so, wie in den oben mitgeteilten Versuchen. Zur Beurteilung der Farbstoffabsorption wurden stark gefärbte wässrige Lösungen von Kristallviolett HCl-Salz und Kristallponceau Na-Salz<sup>1)</sup> verwendet und die Intensität der Färbung der Lösungen nach der 24-stündigen Behandlung (mehrmaliges Durchschütteln) mit den Pulvern mit der ursprünglichen verglichen.

Die erhaltenen Ergebnisse zeigt die folgende Zusammenstellung.

Die Abrinlösung, die zu den Versuchen diente, hatte einen Eiweißgehalt von 0,4 ‰.

Verwendete Substanz	Agglutinin- aufnahme in Prozenten	Aufnahme von Kristall- violett	Aufnahme von Kristall- ponceau
1. Kasein	90—100	sehr stark	deutlich
2. Kasein mit Alkohol erwärmt	90—100	sehr stark	schwach
3. Kasein mit Acetanhydrid behandelt	50		
4. Kasein mit alkohol. Schwefelsäure beh.	25	schwach	sehr stark
5. Kasein mit wässriger Schwefelsäure beh.	90—100	beträchtl.	stark
6. Kasein mit Acetylchlorid beh.	0	schwach	sehr stark
7. Präparat 6 bei Zimmertemperatur mit Ammoniumkarbonat beh.	0		
8. Präparat 6 mit Ammoniumkarbonat erwärmt	50	beträchtl.	stark

Anmerkung. In ähnlicher Weise ließ sich auch zeigen, daß durch Behandeln von Seide mit alkoholischer Schwefelsäure ihr Absorptionsvermögen für Abrin gleichzeitig mit dem für Kristallviolett abnimmt (vergl. Suida).

1) Die reinen Farbstoffe wurden von Herrn Prof. Suida freundlichst überlassen.

Die Versuche lehren, wie erwähnt wurde, daß durch verschiedene chemische Eingriffe das Aufnahmevermögen des Kaseins für Abrin geändert werden kann, und es ergibt sich ein bemerkenswerter Parallelismus in den Veränderungen der Absorption von Abrin und von Kristallviolett durch Kasein. Gleichzeitig mit den Schwankungen der Absorption von Abrin und Kristallviolett gehen solche in der Aufnahme des untersuchten saueren Farbstoffes einher, doch geschehen diese Änderungen in entgegengesetzter Richtung.

Die Erklärung dieser Verhältnisse ist die gleiche, die Suida für seine Resultate bei der Färbung von Schafwolle und Seide gab, daß es sich nämlich um eine Inaktivierung wirksamer saurer Atomgruppen, sei es durch Acylierung, Alkylierung, Anhydridbildung oder eine besondere Art von Säurebindung handle. Dadurch wird bei den Versuchen mit Farbstoffen die Anlagerung der Farbbase bzw. die Umsetzung mit dem Farbsalz, in unserem Falle die Bindung des Abrins, verhindert. Die Verstärkung der Färbbarkeit mit saueren Farben durch die angewendeten Verfahren erklärte Suida durch Bindung von Säure die, die Umsetzung mit dem Salze der Farbsäure möglich macht.

Daß es nicht nur einfache, durch beliebige Säureeinwirkung zu erzielende Anlagerung von Säure ist, die die Verminderung oder Aufhebung der Abrinbindung in unseren Versuchen bedingt, dafür spricht der ganz geringe Effekt der Behandlung mit wässriger Schwefelsäure<sup>1)</sup>, ferner die Unlöslichkeit des durch Acetylchlorid entstandenen Produktes in verdünnter kalter Ammoniumkarbonatlösung.

Aus dem Mitgeteilten kann man auch für die Verbindung von Abrin und Kasein den Schluß ziehen, daß an dieser Reaktion die Affinität der saueren Gruppen des Kaseins beteiligt ist.

Wirklich nimmt gerade das stark saure Kasein im Vergleich zu einigen anderen Eiweißkörpern viel Abrin auf und Seide absorbiert beträchtlich mehr von dieser Substanz als die Schafwolle, die geringere Acidität besitzt.

Da kaum zu zweifeln ist, daß die Reaktion zwischen Abrin und Kasein ein ganz ähnlicher Vorgang ist, wie die Aufnahme von Abrin und anderen Agglutininen durch Blutkörperchen, so geben die angeführten Versuche eine wichtige neue Stütze für die von uns gemachte Annahme<sup>2)</sup>, daß die Verbindungen der Immunkörper salzartigen Charakter besitzen und sich vermöge der amphoteren Natur dieser Stoffe bilden. Es liegen, wie wir schon früher betonten, in dieser Richtung ähnliche Reaktionen vor wie bei den sogenannten Adsorptionserscheinungen<sup>3)</sup> anorganischer kolloider<sup>4)</sup> Säuren und Basen und bei vielen Färbungsprozessen (cf. Bordet). Der Unterschied der hier geäußerten Ansicht, von den bisher aufgestellten Hypothesen über Reaktionen der Immun-

1) Vergl. Gelmo und Suida, Sitzungsber. d. k. Akad. d. Wissensch. in Wien. Math.-naturw. Kl. Bd. CXIV. Abt. 2b. Mai 1905.

2) I. c. Münch. med. Wochenschr. 1904. No. 27. Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXIX. 1905. p. 83 und p. 309.

3) Wahrscheinlicherweise gibt es Adsorptionserscheinungen und Färbungsphänomene verschiedener Art; neben solchen, die wenig von der chemischen Beschaffenheit der reagierenden Stoffe abhängig sind, andere, die sich von chemischen Reaktionen nicht wesentlich, sondern dadurch unterscheiden, daß die reagierenden Stoffe sich in viel größerer Verteilung befinden, als in den Lösungen kristalloider Stoffe.

4) Den Vergleich des Verhaltens der Immunsbstanzten mit dem anderer Kolloide als eine bloß formale Analogisierung zu bezeichnen, wie es versucht wurde, ist, abgesehen von allem anderen, schon deshalb vollkommen unrichtig, weil die Antikörper selbst die wichtigsten Kriterien des sogenannten kolloiden Zustandes besitzen.

körper besteht darin, daß von uns über die Natur der dabei stattfindenden chemischen Prozesse eine bestimmte, experimentell zu prüfende Annahme gemacht wird, während früher die Natur der supponierten chemischen Vorgänge überhaupt nicht diskutiert wurde.

Unserer Auffassung nach muß demnach die Säure- und Basenstärke der Immunkörper und die Beständigkeit ihrer Verbindungen für ihre spezifischen Beziehungen von Bedeutung sein.

### III.

Eine Anzahl von Versuchen stellten wir zu dem Zweck an, den Einfluß der Größe der in den Eiweißlösungen vorhandenen Teilchen auf die Adsorption zu untersuchen. Diese Untersuchung ist wahrscheinlich für die sogenannten Inaktivierungsphänomene der Immunkörper von Bedeutung. Die Immunsbstanzen zeigen in der Regel das Verhalten, durch Erwärmen oder auch längeres Stehen gewisse charakteristische Wirkungen, z. B. die agglutinierenden, präzipitierenden, toxischen Eigenschaften einzubüßen. Nichtsdestoweniger behalten die so veränderten Stoffe das Vermögen, sich an die Substrate, an denen sie früher die erwähnten Wirkungen hervorriefen, zu binden, und es kann ihre Bindungsfähigkeit selbst verstärkt werden.

Da nun durch Erwärmen Eiweißlösungen meistens koagulieren, wobei der völligen Gerinnung eine allmähliche Vergrößerung der in den Lösungen vorhandenen Teilchen vorausgeht, da ferner die Immunsbstanzen entweder Eiweißkörper oder doch organische Kolloide sind, so ist es offenbar leicht möglich, daß die erwähnte Inaktivierung der Immunkörper in einer Anzahl von Fällen mit Koagulationsvorgängen in Zusammenhang stünde<sup>1)</sup>.

Wir prüften nun, in welcher Weise der Einfluß partieller Koagulation von Eiweißlösungen sich bei Adsorptionsversuchen geltend macht.

#### Versuche:

Mit 1-proz. Kochsalzlösung auf das 10-fache verdünntes Blutserum wurde einen Tag lang auf ungefähr 60° erwärmt. Es trat dabei keine Ausflockung ein, wohl aber als Ausdruck einer Bildung größerer Teilchen eine deutliche Opaleszenz der Lösungen. In ähnlicher Weise wurden Abrinlösungen behandelt. Vor dem Adsorptionsversuche wurden die Flüssigkeiten durch Papier filtriert und verdünnt. Als Absorbens kam Kaolin in der Menge von 2 g für 20 ccm der Lösungen zur Anwendung.

So ergaben sich die folgenden Resultate.

	Eiweißgehalt in Promillen	Eiweißverlust nach der Adsorptin in Prozenten
verdünntes Pferdeserum	0,8	25
"      "      erhitztes	0,9	90
verdünntes Pferdeserum	0,95	42
"      "      erhitztes	1,0	85
verdünntes Rinderserum	1,0	50
"      "      erhitztes	0,9	93
Abrinlösung	0,8	37
"      erhitzte	0,8	100

1) Verl. Zangger (Antrittsvorlesung Zürich 1902), ferner unsere Beobachtungen über die Inaktivierung agglutinierender Kieselsäure. (Münch. med. Woch. 1904.)

Es wurden ferner aus erwärmten Eiweißlösungen auch durch Kasein deutlich nachweisbare Eiweißmengen aufgenommen, während, wie schon angeführt wurde, die Adsorption von unerhitztem Eiweiß durch Kasein so gering ist, daß sie bei unserer Methodik nicht nachweisbar war.

In den von uns ausgeführten Versuchen wurde demnach das partiell koagulierte Eiweiß leichter adsorbiert als das unveränderte. Es ist sehr wahrscheinlich, daß dieses Verhalten mit der Vergrößerung der in den Lösungen sich befindenden Partikel zusammenhängt. Es muß demnach an die Möglichkeit gedacht werden, daß die Steigerung des Bindungsvermögens bei durch Erwärmen oder lange Aufbewahrung veränderten Immunsubstanzen auch auf der leichteren Adsorption der vergrößerten Partikel beruhe.

### Ergebnisse.

1) Das Eiweiß der Abrin- und Ricinlösungen und die wahrscheinlich aus Eiweiß bestehenden, in den Lösungen enthaltenen Agglutinine können von verschiedenen festen Proteinsubstanzen, z. B. Kasein, Fibrin, Seide gebunden werden. Die Verbindungen lassen sich, wie andere Agglutininverbindungen, durch Erwärmen, ferner durch Einwirkung von Säuren und Basen teilweise zerlegen.

2) In ähnlicher Weise wie Abrin und Ricin werden die Hämagglutinine normaler Sera von festen Proteinsubstanzen aus ihren Lösungen aufgenommen. Bei spezifisch wirkenden Hämagglutininen ließ sich eine solche Reaktion nicht nachweisen.

3) Durch Behandeln von Kasein mit Acetanhydrid, alkoholischer Schwefelsäure, Acetylchlorid wird dessen Bindungsvermögen für Abrinagglutinin vermindert oder aufgehoben und kann durch Verseifen der gebildeten Produkte wieder hergestellt werden. Parallel mit diesen Änderungen gehen gleichsinnige Schwankungen im Aufnahmevermögen des Kaseins für basische Farbstoffe, entgegengesetzte in der Absorption saurerer Farben. Die Resultate sind auf die Inaktivierung saurerer Gruppen des Kaseins zu beziehen und stützen die früher ausgesprochene Ansicht, daß die Verbindungen der Immunkörper im allgemeinen auf der Entstehung salzartiger Kombinationen amphoterer Kolloide beruhen, ähnlich wie viele Färbungen und eine Zahl sogenannter Adsorptionsprozesse.

4) Nach partieller Koagulation wird Eiweiß aus seinen Lösungen leichter von festen Substanzen adsorbiert. Diese Versuche gestatten einen Vergleich mit dem Phänomen der erhaltenen oder verstärkten Bindungsfähigkeit inaktivierter Immunstoffe.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber die Immunisierung gegen Cholera mittels Bakterienextrakten.

[Aus dem bakteriologischen Institute in Kiew.  
Abteilung von Prof. W. Wysokowicz.]

Von Dr. B. Klein.

Zur Bekämpfung der Choleraepidemie, falls sie aus dem Kaukasus ins Zentralrußland eingeschleppt würde, hat Anfang Januar 1905 der Pirogoffsche Kongreß der Aerzte in Moskau in der Reihe von Maßnahmen prophylaktischer Art auch Schutzimpfungen in großem Umfange empfohlen. Nach dem Beispiel Slatogoroffs (1), der bei zahlreichen, im Jahre 1904 in Persien (Tauris) ausgeführten Impfungen nach Kollé sehr günstige Resultate erhielt, haben sich die russischen bakteriologischen Institute und in erster Linie das kaiserl. Institut für experimentelle Medizin in Petersburg mit der Bereitung von Choleravaccin nach Kollé beschäftigt.

Wie bekannt, haben verschiedene Forscher (Haffkine, Murata, Slatogoroff), welche zahlreiche Schutzimpfungen gegen Cholera machten, nachgewiesen, daß diese Impfungen im Organismus nicht selten eine starke Reaktion hervorzurufen im stande sind. Slatogoroff beschreibt die folgenden Erscheinungen: Lokale Anschwellungen und Rötungen, entzündliches Oedem, welches 3—4 Tage dauerte, und Störungen des Allgemeinbefindens (Kopfschmerzen, Mattigkeit, Steigerung der Körpertemperatur von 38—38,5°). Das bisher angewandte Impfungsmaterial, sei es als lebende Bouillonkultur nach Haffkine oder getötete Agarkultur nach Kollé, besteht aus ganzen Bakterienzellen und bei den Impfungen werden die spezifischen, Immunität erzielenden Substanzen im Gemisch mit anderen unbewußten Körpern in den Organismus eingeführt. Dagegen gibt die moderne bakteriologische Literatur die Möglichkeit, solches Impfungsmaterial darzustellen, welches die spezifischen Substanzen in verhältnismäßig reinerem Zustande enthält. In dieser Hinsicht soll zuerst auf die grundlegenden Arbeiten von Brieger, Kitasato und Wassermann, dann auf diejenigen von Konradi (2), Neisser und Shiga (3), Schütze (4), Bassenge und Mayer (5) hingewiesen werden. Betreffend *B. typhi* und *V. cholerae* haben Brieger und seine Schüler bewiesen, daß schon beim einfachen Schütteln der Choleramikroben im Wasser solche Stoffe gelöst werden, welche, den Tieren eingepfht, in dem Blute derselben spezifische Bakteriolyse und Agglutinine bilden. Nach der Veröffentlichung von Bassenge und Mayer kann auf diese Weise auch bei dem Menschen Immunität gegen Typhus erzeugt werden, und die oben genannten Autoren halten es für möglich, diese löslichen Stoffe anstatt der getöteten Kulturen nach Kollé zu gebrauchen.

Wenn aber nach Mayer die lebenden Choleramikroben ihre löslichen Stoffe so leicht dem Wasser abzugeben im stande sind, so kann man mit noch größerem Rechte dieselben mittels der Methode von Neisser und Shiga (filtrierte Bakterienextrakte aus Agarkulturen) zu erhalten erwarten. Um direkt nachzuweisen, ob die auf diesem Wege erhaltenen Lösungen von immunisierender Eigenschaft sind, unternahmen wir auf die Anregung von Prof. W. Wysokowicz einige Versuche.

Die Lösungen nach Neisser und Shiga wurden auf folgende Weise bereitet: Die Choleramikroben wurden auf schrägem Agar in Flaschen eingimpft, nach 24 Stunden mit physiologischer Kochsalzlösung abgespült (10 ccm für 1 Agarkultur); nach dem Erwärmen bei 60° während 1 Stunde wurden die abgespülten Bakterien bei 37° während 48 Stunden im Brutschrank stehen gelassen und dann durch Chamberlands Kerze filtriert; zum Filtrat wurde  $\frac{1}{3}$ -proz. Karbolsäure zugegeben. Als Versuchstiere dienten 17 Meerschweinchen (zwischen denen 6 Kontrollen). Die Immunisierung wurde auf folgende Weise ausgeführt:

1) Nach Neisser und Shiga.

2) Nach Kolle.

3) Mittels getöteter Bouillonkulturen.

4) Die erste Impfung nach Neisser und Shiga, die zweite mit getöteten Agar- oder Bouillonkulturen.

#### Immunisierung nach Neisser und Shiga.

Versuch I. Meerschweinchen No. 5. 320 g.

9. Jan. 1905.	0,5 ccm subkutan	37,7°	
10. "	0,5 " "	38,3°	
17. "	1,0 " "	38,5°	300 g
18. "	1,0 " "	38,6°	
28. "			330 g

$\frac{1}{3}$  lebender Agarkultur intraperitoneal (tödliche Dosis = 1 Oese). Blieb leben.

Das Kontrolltier ging nach 24 Stunden zu Grunde. Aus der Milz und aus dem Blute wurden Choleramikroben in Reinkultur gezüchtet. (Dieses Kontrolltier diente auch für den Versuch V.)

Versuch II. Meerschweinchen No. 2. 380 g.

12. Febr.	0,5 ccm subkutan	38,7°	
13. "	0,5 " "	38°	
22. "	1,0 " "	38,7°	380 g
23. "	1,0 " "	39,2°	

4. März 350 g  
 $\frac{1}{4}$  lebender Agarkultur intraperitoneal. Blieb leben.

Das Kontrolltier ging nach 24 Stunden zu Grunde. Aus der Milz und dem Blute wurden Choleramikroben in Reinkultur gezüchtet (siehe Versuche III, VI, VII).

Versuch III. Meerschweinchen No. 3. 290 g.

12. Febr.	0,5 ccm subkutan	37,5°	
13. "	0,5 " "	38,3°	
22. "	1,0 " "	38,5°	310 g
23. "	1,0 " "	38,9°	

4. März 335 g  
 $\frac{1}{4}$  lebender Agarkultur intraperitoneal. Blieb leben.

Das Kontrolltier ging zu Grunde (siehe Versuch II).

Versuch IV. Meerschweinchen No. 95. 430 g.

25. Febr.	1,0 ccm subkutan	39,5°	
26. "	1,0 " "	39,7°	
11. März	2,0 " "	39,5°	410 g
12. "	2,0 " "	38,5°	

16. " 435 g  
 $\frac{1}{6}$  lebender Agarkultur intraperitoneal. Blieb leben.

Das Kontrolltier ging nach 20 Stunden zu Grunde. Aus dem Blute wurden Choleramikroben in Reinkultur gezüchtet.

#### Immunisierung nach Kolle.

Versuch V. Meerschweinchen No. 4. 350 g.

8. Jan.	0,5 ccm subkutan	37°	
9. "	0,5 " "	37,2°	
17. "	1,0 " "	38,3°	320 g
28. "		38,5°	350 g

$\frac{1}{3}$  lebender Agarkultur intraperitoneal. Blieb leben.

Das Kontrolltier ging zu Grunde (siehe Versuch I).



Versuch VI. Meerschweinchen No. 1. 295 g.  
 12. Febr. 0,5 ccm subkutan 38,7°  
 13. " 0,5 " " 38,0°  
 22. " 1,0 " " 38,3° 315 g  
 4. März 350 g  
 1/4 lebender Agarkultur intraperitoneal. Blieb leben.

Das Kontrolltier ging zu Grunde (siehe Versuch II).

Versuch VII. Meerschweinchen No. 4. 305 g.  
 12. Febr. 0,5 ccm subkutan 38,8°  
 13. " 0,5 " " 38,4°  
 22. " 1,0 " " 38,2° 335 g  
 23. " 1,0 " " 39,2°  
 4. März 290 g  
 1/4 lebender Agarkultur intraperitoneal. Blieb leben.

Das Kontrolltier ging zu Grunde (siehe Versuch II).

Versuch VIII. Die erste Impfung nach Neisser und Shiga, die zweite nach Kollé. Meerschweinchen No. 5. 470 g.

25. Febr. 0,5 ccm (nach Neisser) subkutan 39,7°  
 26. " 0,5 " " 39°  
 11. März 1,0 " " Kollé " "  
 12. " 1,0 " " " 39,2° 390 g  
 16. " 38,8° 380 g  
 1/6 lebender Agarkultur intraperitoneal. Blieb leben.

Das Kontrolltier ging zu Grunde.

#### Immunisierung mit getöteten Bouillonkulturen.

Versuch IX. Meerschweinchen No. 3. 285 g.  
 11. Dez. 1904. 0,5 ccm subkutan 37,5°  
 12. " 0,5 " " "  
 23. " 1,0 " " 38° 220 g  
 27. " 1,0 " " "  
 12. Jan. 1905. 240 g  
 1/4 lebender Agarkultur intraperitoneal. Blieb leben.

2 Kontrolltiere gingen nach 48 Stunden zu Grunde.

Versuch X. Meerschweinchen No. 6. 450 g.  
 17. Febr. 0,5 ccm subkutan 38,5°  
 18. " 0,5 " " 38,7°  
 25. " 1,0 " " 39,2° 400 g  
 12. März 1/6 lebender Agarkultur intraperitoneal. Blieb leben.

Das Kontrolltier ging vor 24 Stunden zu Grunde.

Versuch XI. Meerschweinchen No. 7. 405 g.  
 25. Febr. 0,5 ccm (nach Neisser) subkutan 38,5°  
 26. " 0,5 " " 38,5°  
 11. März 1,0 " (getöteter "Bouillonkultur") subkutan 39,2° 390 g  
 12. " 1,0 " " " 38,8°  
 16. " 420 g  
 1/6 lebender Agarkultur intraperitoneal. Blieb leben.

Das Kontrolltier ging zu Grunde (siehe Versuch IV).

Die Resultate der oben beschriebenen Versuche sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt:

Art der Immunisierung	Nach Neisser und Shiga	Getötete Bouillonkulturen	Nach Kollé	2 verschiedene Impfstoffe
Zahl der Versuche	4	2	3	2
Resultate	Alle Versuchstiere blieben leben			
Kontrolle	Alle Kontrolltiere (6) gingen zu Grunde			

Bei allen unseren Versuchen konnten wir niemals deutliche Infiltrate bemerken, auch nicht in denjenigen Fällen, wo die Impfungen nach Kollo oder mittels getöteter Bouillonkulturen ausgeführt wurden.

Aus den oben beschriebenen Versuchen entsteht die Schlußfolgerung, daß die nach Neisser und Shiga dargestellten Extrakte immunisierende Eigenschaften besitzen, ebenso wie der Impfstoff nach Kollo oder getötete Bouillonkulturen. Was aber die praktische Bedeutung dieser Methode und ihre Anwendung in größerem Maßstabe anbelangt, so kann in dieser Hinsicht auf die folgende Stelle aus den Vorlesungen über Cholera (russisch) von Prof. W. Wysokowicz hingewiesen werden: „Es ist zweifellos, daß mittels dieser wäßrigen Extrakte Immunität gegen Cholera erzielt werden kann, aber dabei bleibt es noch unerwiesen, wie lange die letztere bei dem Menschen dauert; deswegen halten wir es noch für frühzeitig, diese Methode zum allgemeinen Gebrauche zu empfehlen, um so mehr, da die Darstellung der Impfstoffe viel komplizierter ist und mehr Zeit erfordert, als nach der Methode von Kollo. Doch in solchen Fällen, wo aus irgend welcher Ursache die erste Impfung sehr vorsichtig ausgeführt werden soll (bei empfindlichen Personen), kann man dieselbe nach Neisser und Shiga ausführen (die zweite Impfung nach Kollo). Die erste Impfung, obgleich sie von schwächerer Wirkung ist, erleichtert die lokalen und allgemeinen Erscheinungen, welche die zweite Impfung hervorrufen kann“<sup>1)</sup>.

#### Literatur.

- 1) Slatogoroff, Ueber die Schutzimpfungen gegen Cholera. 1905. p. 20. [Russisch.]
- 2) Conradi, Dtsche med. Wochenschr. 1904. No. 2.
- 3) Neisser und Shiga, Dtsche med. Wochenschr. 1903. No. 4.
- 4) Schütze, Dtsche med. Wochenschr. p. 478.
- 5) Bassenge und Mayer, Dtsche med. Wochenschr. 1905. No. 18.
- 6) Wysokowicz, Ueber Cholera. 1905. p. 29. [Russisch.]

*Nachdruck verboten.*

## Ueber Aggressinimmunisierung von Schweinen gegen Schweineseuche.

[Aus dem hygienischen Institut der deutschen Universität Prag.  
Vorstand: Prof. Hueppe.]

Von Dr. Edmund Weil, Assistenten am Institut.

Die Schwierigkeiten, bei den Erregern der hämorrhagischen Septikämie Immunität zu erzielen, konnten durch Immunisierung mit den von Bail (1) entdeckten Aggressinen leicht beseitigt werden, indem es auf diesem Wege gelang, bei dem gefährlichsten Erreger der hämorrhagischen Septikämie, dem Hühnercholeraabacillus (2), hohe, aktive und passive Immunität zu erzeugen. Auf dieselbe Art und Weise waren

1) Unsere Versuche wurden Ende 1904 unternommen und in dem Russkij Wracz veröffentlicht (Russkij Wracz. 1905. No. 33). Nachdem haben wir aus The Journal of Infectious Diseases erfahren, daß zu ähnlichen Resultaten mit Bakterienextrakten der amerikanischen Forscher Richard Strong im September 1904 gekommen ist (The Journal of Infectious Diseases. Chicago. 1905. Vol. II. No. 1). Deswegen dürfen unsere Versuche nur als diejenigen von Strong bestätigend angesehen werden.

auch bei der Schweineseuchebakterien (2) immunisiert worden. Versuche hierüber wurden nur von Meerschweinchen mitgeteilt, weil es sich hier, ebenso wie bei Hühnercholera, zeigte, daß die Bakterien sich ohne Nachteil für das Tier im hochimmunen Organismus vermehren können, ein Umstand, der die Aggressinimmunität prinzipiell von der bakteriziden unterscheidet.

Mit Schweineseucheaggressin behandelte Kaninchen erlangen eine so dauernde Immunität, daß bereits eine einmalige Injektion genügt, um gegen eine nahezu 5 Monate später vorgenommene Infektion Schutz zu verleihen.

Kaninchen I. 10. VI. 5 ccm steriles Schweineseucheaggressin aus der Kaninchenpleura. Subkutan.

29. X. Infiziert subkutan mit 1 Tropfen Bouillonkultur.

Nach 8 Tagen. Walnußgroßes, derbes Infiltrat.

Nach 3 Monaten. Lebt.

Kaninchen II. Kontrolle. 29. X. Infiziert subkutan mit 1 Tropfen Bouillonkultur.

Stirbt nach 18 Stunden.

Im Infiltrat an der Infektionsstelle und im Herzblut massenhaft Bacillen.

Inzwischen wurden sowohl die Aggressinversuche als auch die Immunitätsergebnisse von Citron (3), was die „objektiven Befunde“ anlangt, in erfreulicher Weise an der Schweineseuche bestätigt, indem Citron durch Aggressinimmunisierung eine so sichere Immunität erzeugen konnte, daß er mit den eigenen Worten des Verfassers kein einziges immunisiertes Tier verloren zu haben angibt. Wassermann und Citron (4) teilen jedoch nicht die Ansicht über die Deutung, die den Aggressinen gegeben wird. Die Aggressine sollen hauptsächlich, aber wie immer erwähnt wurde, nicht ausschließlich, worauf Wassermann und Citron keine Rücksicht nehmen, im Tierkörper, und zwar dort entstehen, wo sich die Bakterien am intensivsten vermehren, an der Stelle der Infektion. Die Aggressine sollen von den Bakterien abgegeben werden, nach Art eines Sekretionsproduktes, wie etwa das Toxin. Da jedoch Wassermann und Citron auch außerhalb des Tierkörpers Bakterienprodukte erzeugen können, die die Infektion steigern und immunisierend wirken, so glauben sie ausschließen zu müssen, daß die Aggressine die Rolle spielen, die Bail ihnen zuschreibt. Wassermann und Citron schütteln Massenkulturen von Bakterien mit Wasser oder Serum und suchen in der zentrifugierten überstehenden Flüssigkeit die Aggressine auf. Im Tierkörper liegen doch andere Verhältnisse vor, wo z. B. bei Hühnercholera, wo die Tiere mit einer minimalen Dosis infiziert werden, nach wenigen Stunden erliegen und im Exsudate reichlich Aggressin enthalten. Wenn das Aggressin ein Sekretionsprodukt der Bakterien ist, kann es ja im Bakterienleib vorgebildet sein und man kann es durch intensive Eingriffe möglicherweise auch aus den Bakterien herausbekommen, wie man z. B. aus einer Drüse ihr Sekretionsprodukt auspressen kann. Von den Toxinen wird ja allgemein angenommen, daß sie reine Sekretionsprodukte der Bakterien sind, und doch gelingt es, wie G. Salus in noch nicht publizierten Versuchen gezeigt hat, aus den Diphtheriebacillenleibern das typische Toxin herauszuschütteln. Es läge also, selbst wenn Citron in den Extrakten Aggressin auffinden würde, nicht der geringste Einwand gegen die Aggressintheorie vor. Wenn Citron bemerkt, daß die Bakterien mit dem destillierten Wasser keinen Kampf zu bestehen haben, so muß das ohne weiteres zugegeben werden, seinerseits wird aber Citron zugestehen müssen, daß die Brust- und Bauchhöhle und das

Unterhautzellgewebe von Tieren keine Schüttelapparate sind. Es ist also, um noch einmal darauf zurückzukommen, nicht unmöglich, daß das im Bakterienleibe vorhandene und im Tierkörper leicht abgegebene Aggressin auch extra corpus, wenn man den Bakterien Gewalt antut, in geringer Menge gewonnen werden kann. Die geringe Ausbeute gibt ja Citron bei Schweineseuche selbst zu. Dieser Umstand deckt sich jedoch vollkommen mit den Anschauungen, die bereits in den ersten Publikationen über die Aggressintheorie ausgesprochen wurden. Trotzdem erscheint es zweifelhaft, ob die nach Wassermann und Citrons Herstellungsweise gewonnenen Extrakte, wie unsere Untersuchungen (5), die noch fortgesetzt werden, ergeben haben, in Bezug auf Infektionsbeförderung und Immunisierung nach demselben Mechanismus wirken wie die natürlichen Aggressine. Was die praktische Seite der Immunisierung betrifft, so gesteht Citron rückhaltlos zu, daß die durch Extrakte erzeugte Immunität der Aggressinimmunität nicht gleichkommt.

Schweine vor den Schweineseucherregern zu schützen, ist von größtem praktischen Interesse, da eine außerordentlich große Anzahl von Schweinen von Schweineseuche befallen wird und ihr auch erliegt. Es soll hier nicht darauf eingegangen werden, wie wenig befriedigend die bisherigen Erfolge der aktiven Immunisierung waren. Der Weg, der behufs Immunisierung von Schweinen einzuschlagen war, war durch die Versuche von Hühnercholera und Schweineseuche an Kaninchen schon vorgezeichnet und einfach auf Schweine zu übertragen. Die Freundlichkeit des Herrn Cheftierarztes Prettnier ermöglichte die Haltung von Schweinen. Die ersten Versuche an Schweinen wurden mit Kaninchenaggressin, durch intrapleurale Infektion gewonnen, durchgeführt. Es ist überflüssig, darauf hinzuweisen, daß zur Immunisierung nur vollständig, aber vorsichtig sterilisiertes Aggressin verwendet werden darf<sup>1)</sup>.

Schwein I. 8. X. 3 ccm steriles Kaninchenaggressin subkutan.

16. X. 7 ccm steriles Kaninchenaggressin subkutan.

3. XI.  $\frac{1}{2}$  Tropfen Bouillonkultur subkutan.

Nach 24 Stunden. Vollkommen reaktionslos. Lebt.

Schwein II (Kontrolle). 3. XI.  $\frac{1}{2}$  Tropfen Bouillonkultur subkutan.

Nach 24 Stunden an der Infektionsstelle weiches, fortschreitendes Infiltrat.

Stirbt nach 36 Stunden.

Ausgebreitetes Infiltrat von der Infektionsstelle ausgehend. Darin, sowie im Herzblute mikroskopisch massenhaft Bacillen.

Es zeigt dieser Versuch, daß die auf 2mal verteilte Injektion von 10 ccm Kaninchenaggressin genügt, vor der das Kontrolltier tötenden Bakterienmenge zu schützen.

Die Injektion von derselben Menge Kaninchenaggressin auf einmal war nicht im stande, die Infektion der Schweine zu verhindern. Das Kontrolltier starb unter den schwersten Erscheinungen und zeigte ein von der Infektionsstelle ausgehendes, fast den ganzen Körper einhüllendes, sulzig ödematöses Infiltrat, in dem sich mikroskopisch zahlreiche Bacillen und fast keine Zellen fanden. Da dem gleichgestalteten

1) Bei so kostspieligen Versuchen ist es angezeigt, zur Prüfung der Sterilität eine größere Menge Exsudat einem Kaninchen oder einer Maus einzupflegen, da die kulturelle Prüfung der Sterilität doch einmal im Stiche lassen kann. Es wurde bereits früher darauf hingewiesen, daß die durch die Sterilisation abgeschwächten Bakterien, selbst wenn sie am Nährboden nicht mehr wachsen, im Tierkörper unter dem Einflusse des Aggressins zum Leben angefaßt werden können. In der Regel aber ist die 48 Stunden lang steril gebliebene Kultur ein Beweis für die Keimfreiheit der betreffenden aggressiven Flüssigkeit.

Oedem bei Milzbrand, in welchem bekanntlich Bail (6) die Aggressine entdeckt hatte, eine starke immunisierende Kraft innewohnt, so lag sofort der Gedanke nahe, das Oedem vom Schweine zu gewinnen und dasselbe zur Immunisierung zu verwenden. Auch andere Gründe bewogen hierzu. Einmal ist es leicht möglich, bei vorteilhaft infizierten Schweinen bei sorgfältiger Präparation des Oedems leicht 300—500 ccm oder auch noch mehr Oedemflüssigkeit zu bekommen, was für die praktische Anwendung in Betracht kommen kann. Dann scheint es auch, was schon frühere Erfahrungen lehrten, daß das homologe Aggressin besser wirke als das von einer fremden Tierart gewonnene. Es wurden nun die Tiere in den folgenden Versuchen mit Schweineaggressin immunisiert, welches sie ebenso wie das Kaninchenaggressin ohne die geringste Lokal- oder Allgemeinreaktion vertrugen. Den Immunisierungseffekt zeigt das folgende Protokoll.

Schwein III. 9. XI. 4 ccm steriles Schweineaggressin subkutan.

17. XI. 6 ccm steriles Schweineaggressin subkutan.

2. I.  $\frac{1}{2}$  Tropfen Meerschweinchenexsudat subkutan.

Nach 24 Stunden. Erbsengroßes, hartes, begrenztes Infiltrat. Bleibt dauernd am Leben.

Schwein IV, d. i. Schwein I des vorigen Versuches, welches weiter immunisiert wird, und zwar bekommt es am

17. XI. 10 ccm steriles Schweineaggressin subkutan.

2. I. 1 Tropfen Meerschweinchenexsudat subkutan.

Nach 24 Stunden. Erbsengroßes, derbes Infiltrat. Dauernd am Leben.

Schwein V (Kontrolle). 2. I.  $\frac{1}{2}$  Tropfen Meerschweinchenexsudat subkutan.

Stirbt nach weniger als 16 Stunden.

An der Infektionsstelle diffuses Oedem, darin mikroskopisch zahlreiche Bacillen. Im Herzblut mikroskopisch massenhaft Bacillen.

Die Infektion in diesem Versuche ist eine ungleich schwerere als im früheren Versuche. Es wurde hier zur Infektion das virulenteste Material, welches nach Prettnier das Exsudat von Meerschweinchen, welche nach intraperitonealer Infektion mit Schweineseuchebakterien gestorben sind, verwendet. Die Menge der Bakterien in  $\frac{1}{2}$  Tropfen Exsudat ist ebenfalls eine bedeutende, denn  $\frac{1}{8}$  Tropfen in 1 ccm Flüssigkeit aufgeschwemmt, ergibt eine deutliche Trübung, das Exsudat besteht nur aus Bakterien und hat keine Zellen — und entspricht etwa der Menge von 1 ccm 24-stündiger Bouillonkultur. Dementsprechend sterben auch die Kontrolltiere in einer bedeutend kürzeren Zeit unter den schwersten Erscheinungen. Die immunisierten Tiere reagieren auf die Infektion hin mit der Ausbildung eines derben, sich rasch verkleinernenden und verschwindenden Infiltrates. Am 1. Tage nach der Infektion ist das Allgemeinbefinden etwas gestört und die Freßlust etwas vermindert. Am 2. Tage jedoch bieten die Tiere vollständig normalen Befund.

Im folgenden Versuche wurde die Immunität durch eine einmalige Injektion von Schweineaggressin zu erzielen gesucht.

Schwein VI. 9. XI. 10 ccm Schweineaggressin subkutan.

24. I.  $\frac{1}{2}$  Tropfen Meerschweinchenexsudat subkutan.

Nach 24 Stunden. An der Infektionsstelle kleinfingerdicker, derber, scharf begrenzter Strang.

Nach 48 Stunden. Vollkommen munter. Bleibt dauernd am Leben.

Schwein VII (Kontrolle). 24. I.  $\frac{1}{2}$  Tropfen Meerschweinchenexsudat subkutan.

Stirbt nach weniger als 16 Stunden.

An der Infektionsstelle diffuses Oedem. Darin mikroskopisch zahlreiche Bacillen. Im Herzblut massenhaft Bacillen.

Dieser Versuch ist nach zwei Richtungen hin von praktischer Wichtigkeit. Einmal zeigt er, daß der Schutz ein sehr hoher und

dauernder ist, denn nach 2 $\frac{1}{2}$  Monaten besteht noch volle Immunität. Ferner genügt bereits die einmalige Immunisierung, um sicheren Schutz zu verleihen. Doch ist hierzu Schweinaggressin nötig, Kaninchenaggressin hat nicht mit Sicherheit diesen Effekt. Dieser Umstand spricht ebenfalls gegen die Annahme Wassermanns und Citrons, daß die Aggressine identisch seien mit den Bakterienextrakten. Denn es wäre nicht einzusehen, warum im Kaninchenexsudate weniger Bakterienbestandteile extrahiert werden sollten als im Schweineaggressin, da doch gerade im subkutanen Gewebe die Bedingungen für Auflösung und Extraktion viel ungünstiger sind als im freien Exsudate. Die Zahl der Bakterien ist auch im Brusthöhlenexsudate von Kaninchen ungemein viel reicher als in der Oedemflüssigkeit des Schweines. Es hat überhaupt, wie auch die Erfahrungen an anderen Mikroorganismen lehrten, den Anschein, daß dort, wo es möglich ist, die Aggressine aus dem subkutanen Gewebe zu gewinnen, diese mit größerem Vorteil zur Immunisierung verwendet werden können als die Aggressine in den freien Exsudaten.

Was die Anwendung der Immunisierung für die Praxis betrifft, so muß dem Umstande Rechnung getragen werden, daß Schweineseuche häufig kombiniert mit der Schweinepest auftritt. Prettnier hat bereits, worüber er selbst in nächster Zeit berichten wird, nach der Methode der Aggressinimmunisierung bei Schweinen gegen Schweinepest Immunität erzielt. Citron hat auf demselben Wege Laboratoriumstiere gegen Schweinepest immunisiert. Bei Uebertragung der Aggressinimmunisierung in die Praxis muß noch ein weiterer Punkt in Betracht gezogen werden, nämlich der, daß die Tiere in der ersten Zeit der Immunisierung, solange das Aggressin nicht vollständig verarbeitet ist, in den Zustand der Ueberempfindlichkeit versetzt werden, daß also mit Aggressin behandelte Tiere bis zur Zeit, wo Immunität eingetreten ist, der natürlichen Infektion viel leichter zugänglich sind als normale Tiere. Diesem Umstande läßt sich dadurch abhelfen, daß man den Tieren gleichzeitig mit dem Aggressin antiaggressives Immunserum einverleiht. Dieses läßt sich bei größeren Tieren in wirksamer Form leicht gewinnen und verfügen wir bereits über ein solches. Das Immunserum ist imstande, die mit Aggressin behandelten Tiere so lange passiv zu schützen, bis die aktive Immunität durch die Aggressinimmunisierung eingetreten ist. Versuche hierüber, sowie über die Kombination der Immunisierung gegen Schweineseuche und Schweinepest sind im Gange und werden demnächst mitgeteilt werden. Es braucht nicht darauf hingewiesen zu werden, daß die Immunisierung mit aggressiven Flüssigkeiten bei Schweineseuche vollkommen gefahrlos ist, daß Impfverluste unmöglich sind. Denn die Immunisierung der Tiere mit einer sterilen Flüssigkeit ist die erste Bedingung des Erfolges.

#### Literatur.

- 1) Bail, Archiv f. Hyg. Bd. LII.
- 2) Weil, Archiv f. Hyg. Bd. LII u. LIV.
- 3) Citron, Zeitschr. f. Hyg. u. Infekt. 1906. Bd. LII.
- 4) Wassermann u. Citron, Deutsche med. Wochenschr. 1905. No. 28.
- 5) Bail u. Weil, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XL. Heft 3.
- 6) Bail, Ibid. Bd. XXXVI. Heft 2 u. 3.

*Nachdruck verboten.*

## Beitrag zur Wertbestimmung chemischer Desinfektionsmittel.

[Aus dem Laboratorium der Krankenhausapotheke München r./I.]

Von Dr. phil. **Rud. Rapp.**

Durch die Arbeiten von Krönig und Paul ist die Wertbestimmung von chemischen Desinfektionsmitteln in einheitliche Bahnen gelenkt worden und dadurch ein großer Fortschritt auf diesem Gebiete zu verzeichnen. Was die Exaktheit betrifft, ist die Methode dieser Forscher nicht zu vervollkommen. Wenn ich es unternahm, dieses Thema zu behandeln, so bestimmten mich dazu andere Gesichtspunkte.

Bei dem heutigen überreichen Angebote von Desinfektionsmitteln ist es nämlich für den Arzt meist unmöglich, über den Desinfektionswert all dieser angepriesenen Präparate sich Gewißheit zu verschaffen, und doch ist eine solche Kenntnis aus verschiedenen Gründen oft sehr notwendig. Wenn auch in der Literatur sehr zahlreiche Angaben über derartige Untersuchungen sich vorfinden, so sind dieselben meist nicht mit derselben Methode oder mit derselben Bakterienart etc. ausgeführt oder sonst nicht gut vergleichbar. Gerade aber hier ist eine größere Versuchsreihe, welche nicht bloß mehrere Bakterienarten, sondern auch zum Vergleiche eine größere Anzahl von bekannten, zum Teil erprobten Desinfektionsmitteln bei der Untersuchung berücksichtigt, für den Chirurgen von ganz besonderem Interesse, da er sich nur auf diese Weise ein klares Bild von seinen Hilfsmitteln machen und nur dadurch von Fall zu Fall eine passende Auswahl treffen kann.

Ob nun die bestehenden Untersuchungsmethoden immer geeignet sind, solche ausgedehnte Versuche mit bescheidenen, einfachen Hilfsmitteln auszuführen, möchte ich dahingestellt sein lassen.

Im folgenden soll nun versucht werden, eine Methode zur Wertbestimmung von chemischen Desinfektionsmitteln darzulegen, welche mehr auf die soeben angedeuteten Punkte Rücksicht nimmt.

Bekanntlich werden bei der Prüfung von Desinfektionsmitteln auf Bakterien eine entwicklungshemmende und die Bakterien abtötende Wirkung streng voneinander unterschieden. Außer dieser entwicklungshemmenden und Bakterien abtötenden Wirkung habe ich bei meinen Arbeiten ein Verhalten beobachtet, welches auch hier mitgeteilt werden soll.

Während bei der Bakterien abtötenden Wirkung ein größeres Quantum Desinfektionsmittel auf eine größere Menge von Keimen ohne Nährstoffe einzuwirken hat, gelangt bei der entwicklungshemmenden Wirkung ein kleines Quantum Desinfektionsmittel mit einer kleinen Aussaat und zugleich mit Nährstoffen zusammen. Nun lassen sich noch andere derartige Verhältnisse konstruieren.

Wie verhält sich z. B. eine kleine Gabe Desinfektionsmittel, öfters dargereicht, vielen Keimen gegenüber bei gleichzeitiger Gegenwart von Nährmaterial? Es ist das ein Verhältnis, wie es z. B. in der Praxis bei Behandlung von eiternden Wunden vorgefunden wird. Also eine größere Menge von Keimen, die überdies die günstigste Gelegenheit zur Vermehrung haben und ein geringes Haftenbleiben und Eindringen

von Antiseptikum. Um über ein solches Verhalten ein Bild zu bekommen, wurden folgende Versuche angestellt:

Zu einer 12-stündigen Bouillonkultur von *Staphylococcus pyogenes aureus* wurde Sublimat im Verhältnisse 1 : 50 000 zugesetzt. Nach 14-, 24- und 48-stündigem Verweilen bei 37° C wurde die Kultur auf ihren Keimgehalt quantitativ untersucht. Es wurde konstatiert, daß nach 14 Stunden eine bedeutende Abschwächung und Abtötung der Keime eingetreten war; aber nach 24 Stunden und gar nach 48 Stunden war bereits wieder eine bedeutende Vermehrung zu bemerken. Folgender Versuch gibt nun genauen Aufschluß über diesen Vorgang:

Eine ältere (A) und eine jüngere (B) Kultur von *Staphylococcus pyogenes aureus*, ebenso eine Aufschwemmung von *Staphylococcus pyogenes aureus* in Bouillon (C) und eine solche in Wasser (D) wurden mit Sublimat im Verhältnisse 1 : 50 000 versetzt.

Die Aussaat vor dem Versuche betrug:

	bei A	B	C	D	Keime pro Oese		
Im Wärmeschranke bei 37° C aufgestellt waren noch vorhanden	80 000	180	614 000	691 000			
nach 14-stündigem Verweilen	340	16	336 000	1	"	"	"
" 24- " "	20 000	11 500	461 000	0	"	"	"
" 48- " "	500 000	∞	∞	0	"	"	"

Durch kleine Mengen von Sublimat tritt also anfangs in *Staphylokokkenkulturen* Verminderung der lebenden Keime ein; nach einer bestimmten Zeit aber erfolgt bei Gegenwart von Nährmaterial eine bedeutende Vermehrung derselben. Die schwächeren Keime sind der Giftwirkung erlegen, die überlebenden, kräftigeren setzen zu starkem Wachstum ein. Bekanntlich ist dieser sogenannte Kampf ums Dasein fast ohne Ausnahme der heftigste, wenn er zwischen Individuen einer Art stattfindet, welche denselben Gefahren ausgesetzt sind. Der Kräftigere, der Gesündere und Geschicktere überlebt und vermehrt sich. Sind dagegen (D) keine Nährstoffe vorhanden, so ist die Verminderung der Keime eine vollständige.

Dieser Vorgang der Keimabnahme und -zunahme kann in ein und derselben Kultur einigemal hintereinander wiederholt werden, sofern immer solche kleine Mengen von Sublimat nach 48 Stunden beigelegt werden. Erfolgt aber ein neuer Zusatz von Sublimat zu einer Zeit, wenn die Abschwächung soeben den Höhepunkt erreicht hat — also nach obigen Versuchen nach ca. 12—14 Stunden — so findet keine neue Vermehrung der Keime mehr statt, die noch überlebenden, kräftigeren werden jetzt gleichfalls geschwächt und erliegen schließlich ebenso der Giftwirkung.

Als Beleg hierfür sei folgendes mitgeteilt:

Eine Kultur zeigte vor dem Sublimatzusatze 791 000 Keime pro Oese. Infolge Einwirkens von Sublimat und bei gleichzeitigem Verweilen bei 37° C waren noch vorhanden

nach 14 Stunden	71 Keime pro Oese
" 24 "	54 000
" 48 "	231 000

Es zeigte sich demnach dasselbe Bild, Abnahme der Keime in den ersten 14 Stunden, dann aber Zunahme in den nächsten 34 Stunden. In der Kultur waren zuletzt noch 231 000 Keime pro Oese vorhanden. Es erfolgte wieder ein neuer Zusatz von Sublimat (1 : 50 000).

Nach 14 Stunden enthielt diese Kultur 780 Keime.



Jetzt nun als die höchste Schwächung der Keime infolge Gifteinwirkung eingetreten war, wurde sofort wieder Sublimat (1 : 50 000) zugesetzt und nach 24 Stunden konnten noch an lebenden Keimen 2 pro Oese, nach 48 Stunden 0 pro Oese, nach 72 und 96 Stunden 0 pro Oese nachgewiesen werden.

Es war jetzt keine weitere Vermehrung mehr eingetreten, nachdem der erneute Zusatz von Sublimat zu einer Zeit erfolgt ist, als sich der Höhepunkt der Schwächung gezeigt hatte. Auch in einer 48 Stunden alten Kultur war die Abtötung nach dem zweiten Zusatze in Intervallen von 14 Stunden, bestimmt aber nach dem dritten Zusatze nach weiteren 14 Stunden eine vollständige. Zur Kontrolle wurde zur gleichen Zeit eine 48-stündige Staphylokokkenbouillonkultur sofort mit dem 3-fachen Sublimatzusatze, wie gewöhnlich 1 : 50 000, versetzt, so daß die Verdünnung nun 1 : 17 000 betrug. Es erhielt die Kultur also dieselbe Menge Gift auf einmal zugesetzt, während die obige in Zwischenpausen von 14 Stunden.

Nach 14 Stunden zeigte diese Kultur =	2 Keime pro Oese
" 24 " " " " =	1 " " "
" 48 " " " " =	51 000 " " "
" 72 " " " " =	234 000 " " "

Wir erzielen also durch kleine, wiederholte Gaben von Sublimat, zu einer Zeit dargereicht, wenn die höchste Grenze der Schwächung der Keime stattgefunden hat, einen stärkeren Desinfektionseffekt, als wenn wir eine größere Dosis oder eine Dosis zu einer Zeit anwenden, wenn schon wieder Bakterienvermehrung eingetreten ist.

Es mußte sofort die Frage gestellt werden, ob dieses Verhalten nur bei Sublimat oder auch bei anderen Antiseptics zutrifft. Geprüft wurde in dieser Weise noch Lysol, Karbolsäure und Formaldehyd. Während bei Sublimat schon eine 2 oder 3malige kleine Gabe, in kürzeren Zwischenpausen dargereicht, genügte, um die vollständige Abtötung der Keime in einer Staphylokokkenbouillonkultur zu erzielen, reichen von Lysol und Karbolsäure (im Verhältnisse 1 : 5000 zugesetzt) 10 bis 12 solcher Gaben, in Zwischenpausen von 12 Stunden beigegeben, erst aus, um obigen Erfolg hervorzubringen. Von Formaldehyd dagegen genügte in dieser Weise ein 3maliger Zusatz im Verhältnisse von 1 : 5000.

Außer anderen wichtigen Schlußfolgerungen war auf Grund eines derartigen Verhaltens eine Methode zur Wertbestimmung von chemischen Desinfektionsmitteln geschaffen. Dieselbe beruht also darauf, daß durch kleine Gaben von einem Antiseptikum die Bakterien in geeigneten Nährlösungen nicht bloß in ihrer Entwicklung gehemmt, sondern durch wiederholte solche kleine Gaben, in kürzeren Zwischenpausen zugesetzt, diese weiter geschwächt und schließlich abgetötet werden.

Diese Methode steht der entwicklungshemmenden am nächsten und unterscheidet sich von derselben dadurch, daß eine große Anzahl von Keimen von Anfang an vorhanden ist und daß der Zusatz von Antiseptikum in kürzeren Zwischenpausen so oft wiederholt wird, bis Abtötung erzielt ist. Die Größe der Verdünnung und die Anzahl der Zusätze bis zur völligen Abtötung ergibt den Unterschied zwischen den Werten der verschiedenen Desinfektionsmittel.

Der genaue Gang der Untersuchung würde sich in folgender Weise gestalten:

Zu einem gleichen Quantum (10 ccm) einer durch Watte filtrierten X-stündigen Bakterienbouillonkultur oder auch einer solchen Aufschwemmung in Bouillon gibt man das Desinfektionsmittel in geringer Menge und bewahrt die Kulturen nach sorgfältigem Mischen im Wärmeschrank bei 37° C auf. Die gleiche (wie zu Anfang zugesetzte) kleine Menge des Desinfektionsmittels wird alle 12 Stunden wiederholt beigegeben. Vor der Zugabe ist aber jedesmal nach sorgfältigem Mischen eine gleichgroße Oese voll Flüssigkeit zu entnehmen, auf schief erstarrtem Fleischwasseragar gleichmäßig zu verstreichen und im Brutschrank bei 37° C aufzubewahren. Ein Wachstum der Keime wird täglich beobachtet eventuell die Anzahl der Kolonien notiert.

Die Frage, in welcher Quantität das Desinfektionsmittel gewöhnlich der Bouillonkultur zuzusetzen ist, wäre in folgender Weise zu lösen: Bekanntlich wird Sublimat in der Praxis meist in 0,1-proz. Lösung, die anderen Desinfektionsmittel je nach der chemischen Beschaffenheit etc. in konzentrierterer Lösung angewandt. Man wählt nun für Sublimat eine Verdünnung im Verhältnisse 1 : 50 000 (in Fällen, in welchen man größere Unterschiede, z. B. wenn man Quecksilbersalze untereinander zu vergleichen hat, eine Verdünnung im Verhältnisse 1 : 100 000), für andere Desinfektionsmittel aber eine kleinere Verdünnung, die jedoch zur Verdünnung von Sublimat in einem bestimmten Verhältnisse steht und zwar je nachdem das betreffende Präparat in stärkerer oder schwächerer Lösung als Antiseptikum empfohlen wird. Am besten eignen sich demnach Präparate, welche in 0,1-proz. Lösung als Desinfektionsmittel empfohlen werden, in einer

Verdünnung im Verhältnisse 1 : 50 000			
in 0,2-proz. Lösung	"	"	1 : 25 000
" 0,5- " "	"	"	1 : 10 000
" 1,0- " "	"	"	1 : 5 000
" 2,0- " "	"	"	1 : 2 500
" 3,0- " "	"	"	1 : 1 600
" 4,0- " "	"	"	1 : 1 250
" 5,0- " "	"	"	1 : 1 000

zuzusetzen.

Demnach wird z. B. Phenol und Lysol, welche in 2-proz. Lösung gewöhnlich Verwendung finden, im Verhältnisse 1 : 2500 der Bakterienkultur beizugeben sein. Je größer die Verdünnungen gemacht werden, desto feiner werden die Unterschiede ausfallen.

Kommen Salze ein und desselben Metalls oder Präparate von ähnlicher chemischer Zusammensetzung zum Vergleiche, so werden zweckmäßig Lösungen mit gleichem Metallgehalte oder äquimolekulare Mengen anzuwenden sein.

Um die Werte kurz auszudrücken, setze ich neben das Desinfektionsmittel die Bakterienart nebst Alter der Kultur, nebenan die Verdünnung und darüber die Anzahl der Zusätze, z. B. Orthokresol mit (24-stdg.) *Staphylococcus pyogenes aureus*. 1250<sup>4</sup>.

Auf die angegebene Weise wurde eine Reihe von Präparaten untersucht, die diesbezüglichen Versuche, die sich auf einen Zeitraum von 2 Jahren verteilen, sind in Tabellen zusammengestellt.

In Tabelle I erhält man von dem Desinfektionswerte von 15 Präparaten ein schönes Gesamtbild. Während Sublimat schon bei einem 1maligen Zusätze im Verhältnisse 1 : 50 000 nach 12 Stunden bei 37° C eine vollständige Abtötung erzielte, genügten von Asterol (p. Sulfo-

phenolquecksilberammoniumtartrat), im Verhältnisse 1 : 25 000 beigegeben, 10 solcher Zusätze noch nicht, um denselben Effekt zu erzielen. Genaue tritt dieser große Unterschied in Tabelle II hervor, wobei die Lösungen von Quecksilberpräparaten, auf den gleichen Hg-Gehalt gebracht, untereinander verglichen worden sind. Auch hier steht Asterol, was die Desinfektionskraft anbelangt, den übrigen Hg-Verbindungen nach.

Tabelle I.

Je 10 ccm einer 24-stündigen Staphylokokkenbouillonkultur.

Versetzt mit	Zur Kultur zugesetzt im Verhältnisse	Einwirkung bei 37° C nach Stunden									
		12	24	36	48	60	72	84	96	108	120
Sublimat	1: 50 000	—	—	—							
Asterol	1: 25 000	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sublamin	1: 25 000	+	—	—							
Hydr. oxycyanat.	1: 25 000	—	—	—							
Argent. nitric.	1: 5 000	+	+	—							
Kollargol	1: 5 000	+	+	+	+	+	+	+	+	Versuch unterbr.	
Protargol	1: 1 000	+	+	—							
Phenol	1: 2 500	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
Lysol	1: 2 500	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
Septoform	1: 1 600	+	+	—	—						
Formaldehyd	1: 5 000	+	+	—	—						
Lysoform	1: 2 500	+	+	+	—	—					
Diaphtherin	1: 10 000	+	+	+	+	+	+		+	+	—
Chinin sulfuric.	1: 500	+	+	+	+	—	—			+	—
Borsäure	1: 1 000	+	+	+	+	+	+	+	—	—	

+ bedeutet Wachstum.

— bedeutet kein Wachstum mehr.

Die Zahlen in Klammern geben die Anzahl der zur Entwicklung gelangten Kolonien an.

Tabelle II.

Je 10 ccm einer 24-stündigen Staphylokokkenbouillonkultur.

Versetzt mit	Metallgehalt	Zur Kultur zugesetzt im Verhältnisse	Einwirkung bei 37° C nach Stunden							
			12	24	36	48	60	72	84	
Sublimat	73,8 % Hg	1: 100 000	+	+	—	—				
Asterol	15 % "	1: 20 000	+	+	+	+	+	+	+	—
Sublamin	44 % "	1: 62 000	+	+	—	—				
Hydr. oxycyanat.	85 % "	1: 108 000	+	+	—	—				
Hg-Jodidpräparat	53 % "	1: 72 000	+	—	—	—				
Argent. nitric.	63,5 % Ag	1: 7 000	+	—	—	—				
Kollargol	90 % "	1: 10 000	+	+	+	+	+	+	+	Versuch unterbr.
Protargol	8,3 % "	1: 1 000	+	+	—	—				
Albargin	15 % "	1: 1 800	+	+	—	—				
Ichthargan	30 % "	1: 3 600	+	—	—	—				

Nach Behring<sup>1)</sup> sollen die Quecksilbersalze nach ihrem Hg-Gehalte zu bewerten sein. Auch ich gelangte zu demselben Resultate. Eine Ausnahme hiervon scheinen nur solche Hg-Präparate zu machen, in welchen sozusagen das Hg maskiert vorhanden ist, in welchen das Hg mit den gewöhnlichen Reagentien nicht sofort nachzuweisen ist; wie dies beim Asterol der Fall ist.

1) Behring, Infektion und Desinfektion. 1894.

Aus der Anzahl der Silberpräparate mußte Kollargol bei den Versuchen in Tabelle II ausgeschieden werden, da außer in Wasser in jedem anderen Lösungsmittel mit Kollargol Fällungen entstehen und dann keine bakterizide Wirkung mehr eintreten scheint.

Von den Präparaten Phenol, Lysol und Formaldehyd desinfizieren die beiden letzteren, besonders aber Formaldehyd besser als das erstere, was auch den praktischen Ergebnissen vollkommen entspricht.

Nach Tabelle III ist die in letzter Zeit öfters behandelte Frage, welches von den 3 Kresolen Ortho, Meta, Para das wirksamere ist, dahin zu beantworten, daß Ortho und Meta gleich, Para etwas weniger abtötend gegenüber Staphylokokken wirkt, wie dies auch von Fraenkel und Henle<sup>1)</sup> für Staphylokokken festgestellt worden ist.

Tabelle III.

Je 10 ccm einer 24-stündigen Staphylokokkenbouillonkultur.

Versetzt mit	Zur Kultur zugesezt im Verhältnisse	Einwirkung bei 37° C nach Stunden				
		12	24	36	48	60
Orthokresol „Kahlbaum“	1:1250	+	+	+	—	—
Metakresol „Kahlbaum“	1:1250	+	+	+	—	—
Parakresol „Kahlbaum“	1:1250	+	+	+	+(56)	—

Ein verhältnismäßig gutes Antiseptikum scheint Chininum sulfuricum zu sein, da schon nach der 5. Gabe zur Bouillon kein Wachstum mehr zu beobachten war. Schade, daß Chininum sulfuricum eine so schlechte Löslichkeit aufweist, sonst wäre jedenfalls eine noch viel kräftigere Wirkung erfolgt. Dieses Verhalten ist um so mehr zu bedauern in Anbetracht seiner geringen Giftigkeit auf tierische Zellen, ein Punkt, der neben dem bakteriziden Ergebnisse bei einem Antiseptikum nicht hoch genug zu schätzen ist.

Tabelle IV.

Je 10 ccm einer 24-stündigen Staphylokokkenbouillonkultur.

Versetzt mit	Zur Kultur zugeetzt im Verhältnisse	Einwirkung bei 37° C nach Stunden					
		12	24	36	48	60	72
A. Lösliche Chininsalze.							
Chinin. bijodic.	1:333	+	+	+(2)	—	—	
„ bisulfuric.	1:333	+	+	+	+	+(90)	+(46)
„ boric.	1:333	+	+	+(7)	—	—	
„ hydrochloric. carb.	1:333	+	+	+	+(71)	—	—
„ hydrobromic.	1:333	+	+	+(1)	—	—	
„ chinic.	1:333	+	+	+(76)	—	—	
Chinidin bisulfur.	1:333	+	+	+	+(47)	+(17)	
„ hydrobromic.	1:333	+	+	+	+(3)	—	
Chinolin hydrochlor.	1:333	+	+(36)	—	—	—	
Chinoidin mur.	1:333	+(65)	+(2)	—	—	—	
B. Schwer lösliche Chininsalze.							
Chinin. sulfur.	1:333	+	+	+	+(18)	—	
„ aethylosulfur.	1:333	+	+	+(8)	—	—	
Lygochinin	1:333	+	+(92)	+(14)	—	—	
C. Unlösliche Chininsalze.							
Euchinin	1:333	+	+	+	+	+	+
Salochinin	1:333	+	+	+	+	+	+

1) Zeitschr. f. Hyg. Bd. VI.

Obiger Umstand veranlaßte mich, nach löslichen Salzen der Chininbasen Umschau zu halten. Durch die Liebenswürdigkeit der Firma Zimmer & Cie.-Frankfurt a. M., die mir die Präparate bereitwilligst zur Verfügung stellte, gelangte ich in den Besitz mehrerer Chininsalze, wofür genannter Firma auch an dieser Stelle mein Dank ausgesprochen sein soll. In Tabelle IV wurden 11 lösliche und 4 schwer lösliche Salze auf ihren Desinfektionswert gegenüber Staphylokokken geprüft. Am wirksamsten ist Chinoidin. muriat. und Chinolin. hydrochloric., dann folgen Chinin. hydrobromic., Chinin. bijodicum, Chinin. boricum, Chinin. aethylosulfuricum, Lygocinin, Chinin. sulfuricum, die Chinidinsalze, Chinin. hydrochloric. carbamidat. Euchinin und Salochinin, beide in Wasser unlöslich, zeigten keine bakterizide Wirkung.

Von Borsäure genügte erst ein Zusatz von 8mal je 5 cg zu 10 ccm Staphylokokkenkultur, um eine vollständige Abtötung unter den erwähnten Versuchsbedingungen (Tabelle I) zu erzielen.

Auf die Frage, ob die oben geschilderten Versuchsbedingungen den Anforderungen genügen, die bei der Ausführung von Desinfektionsversuchen eingehalten werden müssen, so ist hierauf folgendes zu entgegnen:

1) Die Widerstandsfähigkeit der benutzten Bakterien in diesen Versuchen muß eine gleiche genannt werden.

2) Die Anzahl der Keime, weil von derselben gut gemischten, filtrierten Kultur stammend, ist annähernd die nämliche.

3) Während der Einwirkung der Desinfektionsmittel wurde die der Körperwärme naheliegende und für pathogene Keime günstigere Temperatur von 37° C gewählt.

4) Die Uebertragung des Desinfektionsmittels ist durch diese Methode (1 Oese der Verdünnung voll auf ca. 10 ccm Nährboden) eine so minimale, daß bei einem so hohen Grade der Verdünnung nicht gut eine Beeinflussung von seiten des Desinfektionsmittels eintreten kann. Es dürfte gerade dies als ein Vorzug gegenüber anderen Methoden hervorgehoben werden. Denn nicht immer ist durch chemische unschädliche Reagentien das Desinfektionsmittel vollständig zu entfernen, wie das z. B. beim Sublimat mit  $(\text{NH}_4)_2\text{S}$  sich leicht erreichen läßt, nicht immer wird durch Auswaschen allein die Entfernung von Spuren eines Desinfektionsmittels ermöglicht.

5) Schließlich werden die Bakterien nach dem Herausnehmen aus der Desinfektionslösung auf einen günstigen, festen Nährboden bei optimaler Wachstumstemperatur gebracht und können eventuell die entwickelten Kolonien bei geringer Anzahl ungefähr gezählt werden.

Nachdem somit den allgemeinen Anforderungen, die bei der Wertbestimmung eines Desinfektionsmittels gestellt werden, Genüge geleistet wird, so dürfte die Methode zur Anstellung von Desinfektionsversuchen brauchbar erscheinen, und zwar um so mehr, da wir nur weniger Hilfsmittel zu ausgedehnten, vergleichenden Versuchen benötigen, um ein klares Bild darüber zu erhalten, was das Desinfektionsmittel bei stärkster Verdünnung, also im ungünstigsten Falle, zu leisten vermag. Denn jenes Desinfektionsmittel muß unbestreitbar als ein gutes bezeichnet werden, welches in möglichst starker Verdünnung noch eine vollkommene Abtötung der Keime zu erzielen vermag, und jedes andere ist um so besser, je mehr es dieser Anforderung nachkommt.

Ob diese Erfahrung — daß durch öftere kleine Zufuhr eines Antiseptikums, in kürzeren Zwischenpausen dargeboten, ein stärkerer Des-

infektionserfolg als durch größere 1malige Gaben zu erreichen ist — nicht etwas mehr in der Praxis zu verwerten wäre, diese Frage möchte ich an die Herren Aerzte stellen. Wir wissen ja z. B. schon lange, daß feuchte antiseptische Verbände einen besseren Heilerfolg als andere Methoden herbeiführen. Und doch ist diese Applikation nichts anderes als eine fortdauernde Zufuhr von Antiseptikum in kleinen Mengen. Durch solche öftere kleinste Gaben von Desinfektionsmitteln entgehen wir übrigens der Gefahr, daß durch ein Zuviel von dem Antiseptikum eine Vergiftung der fixen Gewebeelemente stattfinden kann.

*Nachdruck verboten.*

## Die Bedeutung der Salzsäure als Mittel zur Desinfektion der Exkremente.

[Aus dem chemisch-bakteriologischen Laboratorium von Dr. S. Serkowski in Lodz.]

Von **W. Kohn**, Lodz.

Ein Desinfektionsmittel muß folgenden Forderungen entsprechen:

- 1) Es muß die Keime unbedingt vernichten, sogar dann, wenn die selben mit einer bedeutenden Menge organischer Substanzen vermenget sind.
- 2) Es muß verhältnismäßig schnell wirken.
- 3) Es soll leicht erhältlich und anwendbar sein.
- 4) Es darf kein starkes Gift sein.
- 5) Es soll nicht zu kostspielig sein.
- 6) Es darf weder die zu desinfizierenden Gegenstände noch die Gefäße, in denen die Desinfektion der Exkremente stattfindet, schädigen.
- 7) Es muß leicht kontrollierbar sein. Als Beispiel kann die Kalkmilch dienen, welche man den Exkrementen in solcher Menge zusetzt, daß die Reaktion stark alkalisch, also das rote Lackmuspapier intensiv blau wird; nur dann kann eine vollständige Desinfektion stattfinden und bei solchen Bedingungen werden nach Pfuhl die Exkremente der Bauchtyphus- und Cholerakranken schon binnen einer Stunde unschädlich gemacht. Es ist aber nichts Seltsames, daß unter den zahlreichen Desinfektionsmitteln kein einziges ist, welches sämtlichen oben genannten Bedingungen entsprochen hätte. Deshalb entsteht auch die Notwendigkeit, weitere und immer neuere Untersuchungen über Desinfektionsmittel zu unternehmen.

Da die Untersuchungen über Salzsäure als Mittel zur Desinfektion der Exkremente bis jetzt nur vereinzelt und resultatlos waren [Schlütter<sup>1)</sup>, Claudio Fermi<sup>2)</sup>, F. Steinitz<sup>3)</sup> etc.], so habe ich eine Reihe von Untersuchungen zum Zwecke der Bestimmung der bakteriziden Eigenschaft der Salzsäure unternommen.

Die von mir angewandte Methode war folgende: Ich habe die 24-proz., jedesmal mittels Titrierung nachgeprüfte Salzsäure mit sterilisiertem Wasser auf solche Weise verdünnt, daß Verdünnungen 1:100,

1) Die Bakterienentwicklung auf sauren Nährboden. (Centr. f. Bakt. Bd. XI. p. 589.)

2) Centr. f. Bakt. Bd. XXIII. 1898.

3) Zeitschr. f. Hyg. und Infekt. Bd. XXXVIII. 1901. p. 128.

1:250, 1:500, 1:750, 1:1000, 1:1500, 1:2000 hergestellt wurden; auf diese Weise habe ich Verdünnungen von HCl (als Gas) 24:10 000, 24:25 000, 24:50 000 etc. erhalten. Als Untersuchungsobjekte habe ich stets 24-stündige Kulturen von *Bac. anthracis*, *Bac. pyocyaneus* und Choleravibrionen, die auf gewöhnlichem Agar in Thermostaten bei 37° gewachsen sind, genommen. Auf jede einzelne Bakterienart habe ich direkt mit einer der genannten Salzsäurelösungen eingewirkt; damit aber dieselben der Säurewirkung gleichmäßig ausgesetzt werden, habe ich deren Emulsionen in Säure hergestellt. Gleichzeitig habe ich zur Kontrolle Emulsionen derselben in sterilisiertem Wasser gemacht. Dann habe ich je 2 Minuten binnen 2—3 Stunden auf Bouillon überimpft und in den Thermostaten gestellt. Nach 24 Stunden konnte man schon erkennen (indem man mit der Kontrolle verglich), ob die betreffende Bakterienart in ihrer Entwicklung gehemmt ist oder infolge der Wirkung von in bestimmtem Grade verdünnter Salzsäure vollständig zu Grunde geht. Um ganz sicher zu sein, habe ich aus der trübe gewordenen Bouillon zur Kontrolle Präparate gemacht und auf Agar geimpft. Ich muß noch hinzufügen, daß als Nährboden zur Ueberimpfung von Bakterien aus der Säureemulsion ich die Bouillon und keinen festen Nährboden (z. B. Agar) deshalb gewählt habe, um die weitere verderbliche Wirkung der mit der Oese auf ihn übertragenen Salzsäuremenge zu vermeiden, in Bouillon aber (resp. Pepton) diese minimale Säuremenge keine Rolle spielt. Die Resultate der Untersuchungen habe ich in folgender Tabelle zusammengestellt.

Bakterizide Eigenschaft der Salzsäure.

Verdünnung. der 24-proz. Salzsäure	24-stündige Kultur	Minuten																	
		1	3	5	8	10	12	15	18	20	25	30	35	40	45	50	60	70	80
1:100 oder 24:10 000	<i>V. cholerae</i> as.	—	—	—	u. s. w.														
	<i>B. pyocyaneus</i>	—	—	—	u. s. w.														
	<i>B. anthracis</i>	—	—	—	u. s. w.														
1:250 oder 24:25 000	<i>V. cholerae</i> (Baku)	—	—	—	u. s. w.														
	<i>B. pyocyaneus</i>	—	—	—	u. s. w.														
	<i>B. anthracis</i>	—	—	—	u. s. w.														
1:500 oder 24:50 000	<i>V. cholerae</i>	—	—	—	u. s. w.														
	<i>B. pyocyaneus</i>	+	+	+	+	+	—	—	u. s. w.										
	<i>B. anthracis</i>	+	+	+	+	+	+	+	—	—	u. s. w.								
1:750 oder 24:75 000	<i>V. cholerae</i>	—	—	—	u. s. w.														
	<i>B. pyocyaneus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	u. s. w.			
	<i>B. anthracis</i>	+	+	+	+	+	+	u. s. w.											
1:1000 oder 24:10 000	<i>V. cholerae</i>	—	—	—	u. s. w.														
	<i>B. pyocyaneus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
	<i>B. anthracis</i>	0	u. s. w.																—
1:1500 oder 24:150 000	<i>V. cholerae</i>	—	—	—	u. s. w.														
	<i>B. pyocyaneus</i>	0	u. s. w.																
	<i>B. anthracis</i>	0	u. s. w.																
1:2000 oder 24:200 000	<i>V. cholerae</i>	+	+	+	+	+	+	—	—	—	u. s. w.								
	<i>B. pyocyaneus</i>	0	u. s. w.																
	<i>B. anthracis</i>	0	u. s. w.																

Erklärung der Tabelle: + bedeutet Entwicklung der Bakterien, + Entwicklungshemmung, — Absterben der Bakterien, 0 Unterlassung von Experimenten.

1) Zu den Experimenten habe ich bis 2000 Nährböden verbraucht.

Betreffend alle in dieser Arbeit benannten, fremde und meine Experimente betone ich nachdrücklich folgendes.

Die erhaltenen Zahlen, betreffend die Menge ausgewachsener Kolonien wie auch der Prozentgehalt des zur Abtötung oder Hemmung der betreffenden Kultur nötigen Desinfektionsmittels müssen immer relativ und mit Vorbehalt genommen werden; es ist nämlich bekannt, daß die Resistenz verschiedener Stämme einer und derselben Art, ja sogar die Resistenz eines und desselben Stammes gegen verschiedene äußere Einflüsse mit der Zeit sehr verschieden wird. Die auf künstlichen Nährböden wachsenden Bakterien büßen manche ihrer Eigenschaften (Virulenz) ein, mit der Ueberimpfung auf immer neue Nährböden dagegen gewinnen sie neue Eigenschaften (Resistenz), indem sie sich dem saprophytischen Leben anpassen. Damit eben erklärt sich diese Verschiedenartigkeit der Resultate von Untersuchungen verschiedener Autoren und daraus folgt auch die Unentbehrlichkeit einer großen Vorsicht beim Gebrauch von desinfizierenden Flüssigkeiten und bei deren Dosierung. Die von mir bei der Bestimmung der bakteriziden Eigenschaft der Salzsäure erhaltenen Resultate haben mich veranlaßt, neue Untersuchungen zu unternehmen, da sie die wichtige Frage aufgestellt haben, ob sich die Säure wegen der Billigkeit und Wirksamkeit zur Desinfektion verschiedenartiger Exkremente nicht anwenden ließe. Bei der Untersuchung chemischer Körper, betreffend ihre bakterizide Wirkung, müssen nämlich auch chemische Eigenschaften des Mediums, in welchem das betreffende Desinfektionsmittel auf Bakterien einwirkt, berücksichtigt werden. Nach Behrings Beobachtungen gehen die Milzbrandbacillen im Wasser beim 1:500 000 betragenden Sublimatgehalt binnen einiger Minuten bestimmt zu Grunde, in der Bouillon erst beim Gehalt 1:40 000, im Serum aber genügt zu solchem Resultat nicht immer der Sublimatgehalt 1:2000.

Boer fand, daß die Resistenz gegen Desinfektionsmittel bei einzelnen Bakterienarten je nach der chemischen Reaktion des Nährbodens verschieden ist. Wegen der Bildung von Albuminaten mit dem Nährboden wirken manche Flüssigkeiten (z. B. Sublimat) weniger desinfizierend. Nach neueren Theorien handelt es sich hier hauptsächlich darum, daß bei der elektolytischen Dissociation das Metall (z. B. Hg) nicht als selbständiges Ion (metallisches Ion) auftritt, sondern zum Bestandteil eines zusammengesetzten Ion (Hg-Albuminat) wird. Im ersten Falle hat die Lösung stärkere, im zweiten bedeutend schwächere desinfizierende Eigenschaften.

Alles oben Gesagte hat mich folgende Untersuchungen behufs der Bestimmung der desinfizierenden Eigenschaften der Salzsäure zu unternehmen veranlaßt.

Ich habe gleiche Teile gewöhnlicher Nährbouillon mit faulendem Urin oder Kot zusammengemischt und das Gemisch während 2 Tage bei 37° gehalten. Nach Verlauf dieser Zeit ist dies Gemisch zu einer dicken, braunen, undurchsichtigen und intensiv stinkenden Flüssigkeit geworden. Diese Flüssigkeit, in deren hängendem Tropfen zahlreiche verschiedenartigste, sogar sporenhaltige Mikroorganismen zu sehen waren, habe ich zum Vergleich der desinfizierenden Eigenschaften der Salzsäure benutzt. Zu diesem Zweck sind 9 Erlenmeyersche Kölbchen mit je 100 ccm dieser Flüssigkeit gefüllt worden. Nach vorheriger Impfung des betreffenden Materials auf eine Agarplatte behufs Feststellung, daß die in demselben befindlichen Bakterien entwicklungsfähig sind, habe ich zu den Erlenmeyerschen Kölbchen 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 3,0, 4,0, 5,0, 6,0,



7,0 ccm 26,4-proz. Salzsäure zugesetzt, gut durchgeschüttelt und dann im Termostaten bei 37° gehalten. Nach Verlauf von einigen Minuten bis 24, 48 und 72 Stunden habe ich ebensolche Platten aus der untersuchten Flüssigkeit verfertigt und bei 37° gehalten. Dabei hat sich gezeigt, daß sämtliche in der untersuchten Flüssigkeit befindliche Bakterien und Sporen infolge der Einwirkung von Salzsäure bei folgenden Konzentrationen und nach Verlauf folgender Zeit zu Grunde gingen.

Menge der techn. 26,4-proz. Salzsäure in ccm	Dauer der Einwirkung von Salzsäure auf das Gemisch in Minuten und Stunden												
	5 M.	10 M.	15 M.	1/2 St.	1 St.	1 1/2 St.	2 St.	6 St.	15 St.	18 St.	31 St.	48 St.	
0,5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
1,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
1,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
2,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
3,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
4,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
5,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
6,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
7,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	

Wenn wir diese Tabelle mit jener, wo wir den unmittelbaren Einfluß der Salzsäure auf Bakterien dargestellt hatten, vergleichen, so können wir beobachten, wie verschieden sich dieselben in ungleichen Flüssigkeiten verhalten. Während zur Abtötung z. B. des *B. anthracis* in Kultur bei unmittelbarer 20 Minuten dauernder Einwirkung 1:500 verdünnte Salzsäure ausreichte, genügt hier sogar die 3-proz. Lösung derselben Säure nicht. Daraus folgt der klare und logische Schluß, daß bei der Desinfektion das Medium, in dem sich Bakterien befinden, berücksichtigt werden muß, weil durch Einwirkung des Desinfektionsmittels auf das Medium verschiedenartigste Verbindungen, organische sowie auch anorganische, welche den Einfluß hemmen und die desinfizierende Kraft vermindern.

Als Beweis können auch die interessanten Experimente von J. Steinitz<sup>1)</sup> über den Einfluß von Salzsäure auf die im tuberkulösen Auswurf befindlichen Tuberkelbacillen dienen. Zu diesem Zweck hat er folgende 5 Experimente ausgeführt.

#### Experiment I.

Aus der käuflichen 25-proz. Salzsäurelösung hat der Autor 4-, 2-, 1/2-proz. Lösungen bereitet, deren 40 ccm er mit 3—4 ccm tuberkulösen Sputums 1—3 Stunden in Berührung hielt, dann hat er den Auswurf sorgfältig mit sterilisiertem Wasser abgespült, die Säure mit 1-proz. Ammoniak neutralisiert, dann mit einer geringen Bouillonmenge im sterilisierten Mörser zerrieben. Das Resultat war, daß sämtliche damit geimpften Meerschweinchen tuberkulös wurden.

#### Experiment II.

Die Anordnung der Manipulation ist dieselbe, wie beim ersten Experiment, nur mit dem Unterschiede, daß der Autor zu den Untersuchungen eine 4-proz. HCl-Lösung gebraucht hat. Die Resultate sind dieselben wie im ersten Falle.

1) Zeitschr. f. Hyg. und Infekt. Bd. XXXVIII. 1901. p. 128.

## Experiment III.

Der Autor hat 5-, 4- und 3-proz. Salzsäurelösungen gebraucht und 3—4 ccm Sputum in Berührung mit jenen (40 ccm) 1—3 Stunden lang gehalten. Die Resultate der desinfizierenden Wirkung der Salzsäure waren auch in diesem Falle negativ mit der Ausnahme, wo der Autor das Sputum in Berührung mit 5-proz. Säurelösung 3 Stunden lang gehalten hat.

## Experiment IV.

Angesichts der ganz schwachen desinfizierenden Wirkung der Salzsäure wurde noch ein Experiment mit sehr konzentrierten, nämlich mit 15-, 12- und 9-proz. Lösungen, mit denen der Auswurf  $1\frac{1}{2}$  Stunde lang in Berührung gehalten wurde, gemacht. Die Resultate sind positiv ausgefallen, kein Tier ist krank geworden.

## Experiment V.

Der Autor hat 3—4 ccm Sputum mit 40 ccm kochender  $2\frac{1}{4}$ - und 5-proz. Salzsäure 1 Stunde lang in Berührung gehalten. Das Resultat war dasselbe wie beim vorherigen Experiment. Die Resultate seiner Untersuchungen hat der Autor in folgender Tabelle zusammengestellt.

Tabelle.

Experiment I.

Verdünnung der Salzsäure	Dauer	Resultat
4- proz.	1 Std.	+
2- „	1 „	+
0,5- „	1 „	+
2- „	3 „	+
0,5- „	3 „	+

Experiment II.

Verdünnung der Salzsäure	Dauer	Resultat
2- proz.	1 Std.	+
0,5- „	1 „	+
2- „	3 „	+
0,5- „	3 „	+

Experiment III.

5-proz.	1 Std.	+
3- „	1 „	+
5- „	3 „	— <sup>1)</sup>
4- „	3 „	+
3- „	3 „	+

Experiment IV.

15-proz.	$1\frac{1}{2}$ Std.	—
12- „	$1\frac{1}{2}$ „	—
9- „	$1\frac{1}{2}$ „	—

1) Das Tier ist nach 8 Wochen getötet worden. Die Tiere sind nach 8 Wochen getötet worden.

Experiment V.

Verdünnung der Salzsäure	Dauer	Resultat
5- proz.	1 Std.	—
2,5- „	1 „	—

Die Tiere sind nach 8 Wochen getötet worden.

Obige sowie die von mir gemachten Experimente bezweckten hauptsächlich das Verhältnis der Salzsäure als Desinfektionsmittel der Exkremente aufzuklären, ob nämlich dieselbe zur Desinfektion von Abortgruben, Pissoiren, Sputa etc. gleich mit anderen desinfizierenden Flüssigkeiten nicht angewendet werden könnte. Aus diesen Experimenten aber resultieren zwei unangenehme, leider aber zu vermutende Konsequenzen. Die erste und wichtigste von ihnen ist die, daß die zur Desinfektion von gleichen Mengen faulender Substanzen nötige Salzsäure meinen Untersuchungen nach andere Desinfektionsmittel, Kalkmilch u. a., im Preis

sogar übersteigt. Zweitens ist zur vollständigen und schnellen Desinfektion solche Konzentration der Säure nötig, welche bestimmt keinen günstigen Einfluß auf die Gefäße, in denen die faulenden Substanzen der Desinfektion unterliegen sollen, ausüben wird. Ich habe nämlich berechnet, daß zur vollständigen Desinfektion von 1 km 70 Liter 26-proz. techn. Salzsäure nötig wären (7 ccm derselben Säure desinfizieren nach meinen Untersuchungen 100 ccm faulender Substanzen binnen 2 Stunden). Zu demselben Zweck müssen 250 kg Kalkmilch<sup>1)</sup>, 166 kg Chlorkalk verbraucht werden. Der Preis von 70 l techn. Salzsäure beträgt 5 Rb. 60 Kop. (1 l zu 8 Kop. berechnet), der von Kalkmilch 3 Rb. 12 Kop. (1 Pf.  $\frac{1}{2}$  Kop.), der von Chlorkalk — 20 Rb. 75 Kop.) (1 Pf. kostet 5 Kop.).

Das allgemeine Resultat sämtlicher dieser Untersuchungen ist also betreffs der Brauchbarkeit der Salzsäure negativ, da dieselbe einer der wichtigsten Bedingungen, der der Billigkeit, nicht genügt. Andererseits aber, wenn man erwägt, daß viele Autoren in letzter Zeit den Gebrauch von Salzsäure zu genannten Zwecken empfohlen haben und daß man mit der Ankündigung des endgültigen Schlusses wegen oben erörterter Gründe (Verschiedenartigkeit der Methodik, ungleiche Resistenz der Stämme, Bakterienmenge<sup>2)</sup>, sehr vorsichtig sein muß, stelle ich meine Schlüsse zur Diskussion.

Zum Schluß fühle ich mich verpflichtet, dem verehrten Herrn Dr. Serkowski für die mir bei meiner Arbeit erteilten wohlwollenden und werten Hinweise herzlich zu danken.

*Nachdruck verboten.*

## Eine Fixierungsmethode für die Darstellung von Bakterienkapseln.

[Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie der Kaiser Wilhelms-Universität Straßburg i. E.]

Von Dr. **Heinrich Kayser**,

früherem I. Assistenten des Instituts, jetzigem Oberarzt I.-R. 172, kommandiert zum Institut.

In der Dezembersitzung 1905 des hiesigen naturwissenschaftlich-medizinischen Vereins hat Prof. F. Weidenreich<sup>3)</sup> eine neue Art der Fixierung von histologischen, besonders Blutpräparaten bekannt gegeben, die in hervorragender Weise lebensgetreue Bilder liefert.

Ich habe diese Methode für bakteriologische Zwecke geprüft, und bin zunächst zu dem Resultat gekommen, daß sie sich als Vorbereitung zur Kapselfärbung von Spaltpilzen in ausgezeichnete Weise eignet.

Vorhandene Kapseln können mit einer Regelmäßigkeit und Leichtigkeit dargestellt werden, die wir bisher nicht gewohnt waren, und ins-

1) Esmarch, Hyg. Taschenbuch s. über Desinfektion.

2) Almquist und Gerda Troili-Petersson, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXIX. 1905. Heft 4. p. 477.

3) Cf. Sitzungsbericht des Straßb. naturwissenschaftl. mediz. Vereins 8. Dez. 1905. (Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 8. p. 384.) — Ferner ausführlichere Publikation: Folia haematologica. 1906. No. 1. p. 1—7.

besondere für Kurszwecke ist — auch nach den diesbezüglichen Erfahrungen von Herrn Prof. J. Forster und E. Levy — diese Fixierung den bisherigen weit überlegen, einmal wegen der Sicherheit, mit welcher Bakterienkapseln herauskommen und demonstriert werden können, und dann, weil die Präparate nicht in Wasser besichtigt zu werden brauchen, sondern als Dauerpräparate behandelt werden können.

Mit *Diplococcus pneumoniae* Fränkel, mit dem Friedländer'schen *Diplobacillus*, sowie Milzbrandbacillen habe ich aus dem Tierblut sehr schöne Kapseln erhalten in Fällen, bei welchen die bisherigen Methoden allein fast versagten. Bei *Bacterium coli commune*, *Bact. typhi*, *Bac. pyocyaneus* aber gelang es mir nicht, aus dem Blut gefallener Tiere Kapseln darzustellen. Doch sieht man bisweilen bei Nichtkapselbakterien einen äußerst schmalen farbstofffreien Saum um den gefärbten Leib. Es scheint sich dabei um einen Bestandteil der Bakterien zu handeln, der bisher nicht oder nur äußerst selten gesehen wurde.

Auch aus künstlichen Milzbrandkulturen stellte ich die Kapseln dar. — Herr Dr. Hamm, Assistent unseres Institutes, führt nun zur Zeit die bakteriologischen Untersuchungen mit der jetzt zu schildernden Methode weiter, und wird seinerzeit ebenfalls über seine Resultate berichten.

Die Anwendung des Fixierungsverfahrens nach Weidenreich ist für unsere Zwecke folgende:

Zwei Lösungen werden bereitet

I. In 5 ccm 1-proz. Osmiumsäure Merck (= Osmiumtetroxyd) kommen 10 Tropfen Eisessig.

II. eine sehr dünne wässrige Lösung von übermangansaurem Kali (= etwa 1 kleiner Kristall in 50 ccm Wasser).

Wesentlich ist nun, daß auf einem vorbehandelten Objektträger das frische Präparat in noch feuchtem Zustand mittels der Dämpfe von Lösung I sofort nach dem Ausstreichen fixiert wird.

1) Als einfache, gut wirksame und leicht beschaffbare Glocke zur Aufnahme der Lösung I und des zu fixierenden Präparates diente mir die bekannte Petrische Doppelschale. Auf deren Boden steht ein niederes Glasschälchen (mit Lösung I), überdacht von einem Drahtnetz, auf welchem die zu belegenden Deckgläschen oder Objektträger mindestens 2—3 Minuten vor dem Aufbringen des Materials — mit der zu belegenden Seite nach der Lösung gekehrt! — ruhen. Der Deckel schließt die Petrische Doppelschale ab.

2) Das Objektgläschen wird zum Ausstrich für kurz aus der Doppelschale geholt, belegt und sogleich, noch feucht, wieder über die Dämpfe der Lösung I gebracht.

3) Nach Verlauf von 2—3 Minuten läßt man das Präparat außerhalb der Doppelschale lufttrocken werden. Für unseren Zweck ist es gut, bei und nach diesem Vorgang nicht zu erhitzen.

4) Hierauf wird Lösung II übergegossen und nach 1 Minute der Objektträger in Wasser gespült. Auf diese Weise beseitigt man die bekannte färbungstörende Nebenwirkung der Osmiumdämpfe.

Daran schließt sich die Kapselfärbung. Mir hat sich dabei die nach Klett, nach Johne, sowie die Heims recht gut bewährt. Die Kapseln treten infolge einer Kontrastfärbung (besonders bei eiweißhaltiger Aufschwemmungsflüssigkeit) als schwach tingierte an-

sehnliche Hüllen der stärker gefärbten Bakterienleiber aus-gezeichnet in die Erscheinung.

Ein luftrocknes Präparat darf nach meiner Erfahrung nicht erhitzt werden, da unter Umständen Austrocknungskunstprodukte am Bakterienleibe auf diese Weise entstehen, welche die Beurteilung des gefärbten Ausstriches stören können.

Außer zur Kapseluntersuchung — auch klinischen Materiales am Krankenbett! — eignet sich die eben behandelte Fixierungsmethode aber auch zu anderen morphologischen und färberischen Konstatierungen in der Bakteriologie sehr gut.

*Nachdruck verboten.*

## Zur Kritik der Marx-Ehrnroothschen Blutdifferenzierungsmethode.

Von Dr. **Hugo Marx**,

Assistenten der Unterrichtsanstalt für Staatsarzneikunde an der Universität Berlin.

Als Ehrnrooth und ich im Jahre 1904<sup>1)</sup> unser Verfahren zur forensischen Unterscheidung von Tier- und Menschenblut publizierten, glaubten wir hinreichend bescheiden auf die Grenzen unseres Verfahrens hingewiesen zu haben. Wir wollten unser Verfahren für eine Reihe von Fällen als eine brauchbare Hilfs- und Vorprobe für die Präzipitinmethode angesehen wissen und haben es in diesem Sinne empfohlen; und in eben diesem Sinne hat eine Reihe von Autoren wie Pfeiffer, Carrara, Hegler, Kratter, Uhlenhuth und neuerdings Corin<sup>2)</sup> uns ihre Zustimmung nicht versagt.

Nun belehrt uns Martin (Bd. XXXIX, Heft 6 dieses Centralblattes), daß wir in der Empfehlung unseres Verfahrens noch viel zu weit gegangen sind.

Martin hat eine große Anzahl getrocknet aufbewahrter Tierblutproben verschiedenen Alters nach unseren Angaben untersucht, und er will dabei ein außerordentlich variables Agglutinationsvermögen der heterologen Blutarten für seine eigenen Erythrocyten gefunden haben.

Andererseits hat Martin beobachtet, daß Isoagglutinine in getrocknetem Menschenblut noch nach 13 Tagen vollkommen wirksam waren, während gleichaltes Kaninchenblut die Erythrocyten Martins nicht mehr agglutinierte.

Auf die Rolle, welche die Isoagglutinine für unser Verfahren spielen, will ich diesmal nur mit wenigen Worten eingehen.

In Uebereinstimmung mit Landsteiner und Richter<sup>3)</sup> haben Ehrnrooth und ich nachweisen können, daß Isoagglutinine in getrocknetem Blut nach etwa 4 Wochen verschwinden. Die von uns vorgeschlagenen Hilfsproben, die gestatten, Isoagglutinine von Agglutininen innerhalb der ersten vier Wochen in getrockneten Blutproben zu unterscheiden, hat Martin nicht nachgeprüft. Ich bin auch heute noch der Ansicht, daß bei Berücksichtigung des Alters der Blutproben und ge-

1) Münch. med. Wochenschr. 1904. No. 7 u. 16.

2) Annales de la société de médecine légale de Belgique. T. XVII. No. 1.

3) Zeitschr. f. Medizinalbeamte. 1903.

nügender Erfahrung in der Handhabung unserer Methode und in der Beurteilung ihrer Resultate den Isoagglutininen eine untergeordnete Bedeutung für unser Verfahren zukommt.

Da wir ferner unser Verfahren nur für diejenigen Fälle vorgeschlagen haben, in denen reichliches Untersuchungsmaterial zur Verfügung steht, so dürfte die Möglichkeit, unsere Probe nach einigen Tagen zu wiederholen und so das erste Resultat durch das zweite zu überprüfen, in diesen Fällen Schwierigkeiten nicht begegnen.

Für eine Reihe von Untersuchern kommen, wie wir das schon früher betont haben, und wie auch aus den Untersuchungen von Landsteiner und Richter (l. c.) hervorgeht, übrigens die Isoagglutinine überhaupt nicht in Betracht, nämlich für solche, deren Erythrocyten gegen Isoagglutinine unempfindlich sind. Vor allem aber bleibt immer zu bedenken, daß wir die Resultate unserer Probe ständig durch die Präzipitinmethode kontrollieren und niemals auf den Ausfall der Marx-Ehrnroothschen Reaktion allein unser Votum abgeben. Im schlimmsten Falle aber würden die Isoagglutinine immer nur einen Irrtum zu Gunsten des Angeschuldigten bewirken können.

Ungleich bedeutungsvoller für die Kritik der Marx-Ehrnroothschen Probe ist das Verhalten der Agglutinine in angetrockneten heterologen (Tierblut) Proben. Mir stehen natürlich eben dieselben Blutproben, die Martin untersucht hat, nicht zur Verfügung; ich kann also seine eigenen Resultate nicht kontrollieren. Es erscheint aber eigentümlich, daß gerade so viele von Martins Blutarten ihm negative Resultate gegeben haben, wo nicht nur wir, sondern auch Pfeiffer mit sämtlichen untersuchten Blutsorten unsere Reaktion bekommen haben.

Ich muß Martin ersuchen, mitzuteilen, wie lange er die einzelnen Blutsorten extrahiert hat. Meine spätere Arbeit in der ärztlichen Sachverständigenzeitung (1904. No. 21) hat Martin sicher nicht gelesen, er hätte sie sonst wohl in seinem Literaturverzeichnis angeführt.

Pfeiffer<sup>1)</sup> hat zuerst darauf aufmerksam gemacht, daß ältere Blutsorten erst nach ein- bis mehrtägiger Extraktion mit 0,6-proz. Kochsalzlösung wirksame Blutlösungen ergeben. Auf diese Weise hat Pfeiffer mit 37 Jahre altem Tierblut noch positive Resultate erreicht.

Mir selbst ist es gelungen, aus getrocknetem Ziegenbockblut vom Jahre 1863 noch eine agglutinierende Lösung zu erhalten.

Zur Vorbereitung dieser Entgegnung habe ich noch einmal 19 verschiedene Säugetierblutsorten untersucht. Ich stelle sie in einer kleinen Tabelle zusammen:

Hammelblut vom 18. Januar 1902	} in Substanz getrocknet	Rinderblut vom 8. Februar 1901	} an Leinwand angetrocknet
" " 17. März 1904		Kalbsblut vom 8. Februar 1901	
Rinderblut vom März 1876		Schaffblut vom 8. Februar 1901	
" " 19. März 1903		Pferdeblut vom 8. Februar 1901	
" " 17. März 1904		Schweineblut vom 2. Februar 1901	
Schweineblut vom 19. März 1903		Hundeblut vom 14. Februar 1901	
Katzenblut vom 16. Juli 1901		" " 12. April 1901	
Ziegenbockblut von 1863			
" " 1869			
Hundeblut vom 14. Januar 1902			
Kalbsblut vom 23. Juli 1876			
Kaninchenblut vom Juni 1898			

Die Extraktionsdauer betrug 24—72 Stunden bei einer Temperatur von 10—15° C. Die Kochsalzlösung war 0,6-proz., der Zusatz der Blut-

1) Deutsche med. Woehenschr. 1904. No. 30.

lösung zu den stets frisch der Fingerkuppe entnommenen möglichst kleinen Blutropfen geschah so, daß ein großer Tropfen der Lösung auf den Objektträger, der kleine Blutropfen auf das Deckgläschen gebracht und nun einfach bedeckt wurde. In keinem Falle habe ich ein positives Resultat vermißt. Ich brauche dabei wohl kaum zu erwähnen, daß bei der Untersuchung der ganz alten Blutproben, die ein Alter von mehreren Jahrzehnten haben, keine stürmische Agglutination und Hämolyse stattfand; aber deutliche Zusammenballung deformierter Blutkörperchen habe ich auch bei diesen Blutsorten älteren Datums in allen Präparaten an zahlreichen Stellen konstatieren können, so zwar, daß ich keinen Augenblick daran zweifeln konnte, daß hier Tierblut vorlag. Auch bei der Präzipitinmethode variiert ja die entstehende Trübung zwischen dicken grauen Wolken und zartem, schleierartigem Hauch. Der erfahrene Untersucher wird auch die leichte Trübung zu erkennen und zu beurteilen wissen, wie er auch bei unserer Methode die geringeren Grade der Agglutination und Hämolyse entsprechend zu werten verstehen wird.

Da Martin, wie schon gesagt, meine Arbeit aus der ärztlichen Sachverständigenzeitung nicht gelesen zu haben scheint, so muß ich hier noch einmal wiederholen, daß man aus den mehr als 40 Jahre alten Blutsorten dunkelbraunrote Blutlösungen nicht mehr erhalten kann, daß gleichwohl in den leicht gelblichen Lösungen nach 24—72-stündiger Extraktion die Agglutinine in genügend wirksamer Menge vorhanden sind. Man kann deutlich beobachten, wie die Lösungen von Tag zu Tag wirksamer werden. Länger als 3mal 24 Stunden habe ich in keinem Falle zu extrahieren brauchen.

Vogelblutsorten habe ich diesmal nicht aufs neue untersucht; ich habe mich aber früher oft genug davon überzeugt, daß auch aus älteren Proben wirksame Lösungen unter den angegebenen Maßregeln erhalten werden können. Im übrigen kommt Vogelblut und das Blut anderer Tierklassen aus Gründen, die Martin bekannt sein dürften, für uns nicht in Betracht.

Aus Uhlenhuths Aufsatz in der Wiener medizinischen Wochenschrift (1904. No. 43—44) führt Martin den Satz an, daß die Agglutinine variable Faktoren sind, die bald stärker, bald schwächer wirken, ja auch besonders in angetrocknetem Blute im Laufe der Zeit zu Grunde gehen können. Zweifellos werden die Agglutinine im Laufe der Jahre in angetrocknetem Blute schwächer, gleichwohl kann man sie, wenn man die Extraktion, wie wir es tun, genügend lange fortsetzt, in einer für unsere Reaktion wirksamen Menge noch erhalten.

Uebrigens hätte Martin in derselben Arbeit von Uhlenhuth den Satz finden können, daß die Marx-Ehrnroothsche Probe „in zahlreichen Fällen zur schnellen Orientierung in der Hand geübter Sachverständiger wertvolle Dienste leisten kann“.

Seine Kritik schließt Martin mit den Worten: „Mag man auch mit der Marx-Ehrnroothschen Hilfsreaktion unter Umständen zu einem rechten Resultate kommen, so ist sie jedenfalls nicht so zuverlässig, wie die forensische Praxis es verlangt. Da meistens auch sehr wenig Material für eine Blutdifferenzierung vorhanden ist, so wird man wohl am besten sich auf die Uhlenhuthsche Methode allein beschränken, zumal sie sicher genug ist, um eine Hilfsreaktion entbehren zu können.“

Sicher hat Martin mit diesem Satze darin recht, daß da, wo nur geringes Material vorhanden ist, unsere Methode ihr Recht verloren hat.

Das Eine aber dürfen wir wohl von unserer Methode behaupten, daß sie eine wirkliche Blutdifferenzierungsmethode ist. Andere tierische Eiweißlösungen außer Blut geben die Reaktion nicht, wovon wir uns wiederholt überzeugt haben.

Wenn im übrigen Martin sagt, daß die Uhlenhuthsche Methode sicher genug ist, um einer Hilfsreaktion entbehren zu können, so möchte ich ihm einige Experimente mitteilen, die ich kurz vor dem Erscheinen des Wassermannschen Aufsatzes (Deutsche medizin. Wochenschrift. 1904. No. 12) angestellt habe.

Ich stellte mir aus Frauenmilch und Schweineblut, ferner aus menschlichem Nasenschleim und Rinderblut Mischungen her, mit denen ich Leinwand und andere Stoffe tränkte. Nachdem die Lösungen genügend angetrocknet waren, laugte ich die entstandenen Flecken in bekannter Weise mit 0,6-proz. Kochsalzlösung aus, zentrifugierte und erhielt, wie es auch nicht anders zu erwarten war, mit dem üblichen Kaninchen-Menschenblut-Antiserum Trübungen in den klaren Lösungen. Da gleichzeitig ebenso natürlich vorher das Vorhandensein von Blut nach den üblichen Methoden nachgewiesen werden konnte, so mußte man zu dem Schlusse kommen, daß hier Menschenblut vorlag, und doch war dieser Schluß falsch, und im gegebenen praktischen Falle wäre er ebenso falsch wie verhängnisvoll gewesen. Diese Fälle sind durchaus nicht so theoretisch konstruiert, wie es auf den ersten Blick scheinen könnte. Der Fall läßt sich wohl denken, daß etwa ein ländlicher Arbeiter sich beim Schweineschlachten den Rockärmel mit Blut beschmiert und sich nachher nach Art dieser Leute mit dem Rockärmel die Nase putzt. In diesem Falle würde man eben mit der Präzipitinmethode allein nicht auskommen, und wäre reichliches Material vorhanden, so würde hier das Marx-Ehrnroothsche Verfahren durchaus zu seinem Rechte kommen können.

Abgesehen davon, ist unser Verfahren so einfach, so ganz jeder technischen Schwierigkeit bar, daß man da, wo reichliches Material vorliegt, in jedem Falle sich seiner, wie es auch Uhlenhuth getan und vorgeschlagen hat, zur schnellen Orientierung bedienen sollte. Wir haben nie den Anspruch erhoben, daß auf den Ausfall unseres Verfahrens allein das entscheidende Votum abgegeben werden soll. In meinem Referat über den forensischen Blutnachweis (Berliner klinische Wochenschrift. 1905. No. 10) habe ich dem zitierten anerkennenden Satze Uhlenhuths hinzugefügt: „Die biologische Reaktion, so fügt er (Uhlenhuth) mit Recht hinzu (l. c.), kann in keinem Falle entbehrt werden.“



## Inhalt.

- Bertarelli, E. und Volpino, G.**, Weitere Untersuchungen über die Gegenwart der *Spirochaete pallida* in den Schnitten primärer, sekundärer und tertiärer Syphilis, p. 74.
- Cagnetto, Giovanni**, Ueber das Verhalten des Rotzvirus im Harne und seine Ausscheidung durch die Nieren, p. 21.
- Carini, A.**, Vergleichende Untersuchungen über den Einfluß hoher Temperaturen auf die Virulenz trockener und glycerinierter Kuhpockenlymphe, p. 32.
- Eisenberg, Philipp**, Weitere Untersuchungen über den Mechanismus der Agglutination und Präzipitation, p. 96.
- Fuhrmann, O.**, Die Tänien der Raubvögel, p. 79.
- Ghon, A., Mucha, V. und Müller, E.**, Beiträge zur Kenntnis der anaeroben Bakterien des Menschen. IV. Zur Ätiologie der akuten Meningitis, p. 1.
- Kayser, Heinrich**, Eine Fixierungsmethode für die Darstellung von Bakterienkapseln, p. 138.
- Klein, E.**, Ueber die Immunisierung gegen Cholera mittels Bakterienextrakten, p. 118.
- Kohn, W.**, Die Bedeutung der Salzsäure als Mittel zur Desinfektion der Exkremente, p. 133.
- Kraus, R. und Přibram, E.**, Ueber Choleravibrionen und andere pathogene Vibrionen. I. Ueber die Beziehungen der Choleravibrionen El Tor zu dem Choleravibrio, p. 15.
- Kudicke**, Ein Beitrag zur Kenntnis der menschlichen Trypanosomakrankheit, p. 72.
- Landsteiner, Karl und Stanković, Radenko**, Ueber die Adsorption von Eiweißkörpern und über Agglutininverbindungen. II., p. 108.
- Marx, Hugo**, Zur Kritik der Marx-Ehrnroothschen Blutdifferenzierungsmethode, p. 140.
- Metalnikoff, S.**, Die Tuberkulose bei der Bienenmotte (*Galleria melonella*), p. 54.
- Mühlens, P. und Hartmann, M.**, Zur Kenntnis des Vaccineerreger, p. 41.
- Nedrigaloff, W. J.**, Zur Frage über die Bedeutung der Fixatoren und Stimuline im bakteriziden Serum, p. 89.
- Negri, A. und Pane, D.**, Eine Dysenterieepidemie in der Provinz Pavia, p. 70.
- Rapp, Rud.**, Beitrag zur Wertbestimmung chemischer Desinfektionsmittel, p. 126.
- Sanfelice, Francesco**, Ueber die pathogene Wirkung der in die Trachea geimpften Blastomyceten, p. 61.
- Weil, Edmund**, Ueber Anergissinimmunisierung von Schweinen gegen Schweineseuche, p. 121.

---

*Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.*

---

## **Beiträge zur Kenntnis der anaëroben Bakterien des Menschen.**

[Aus dem pathologisch-anatomischen Institute in Wien (Vorstand: Prof. Dr. A. Weichselbaum).]

### **IV. Zur Aetiologie der akuten Meningitis.**

Von Prof. Dr. A. Ghon, Dr. V. Mucha und Dr. R. Müller.

Mit 2 Tafeln und 5 Textfiguren.

(Fortsetzung.)

#### **Fall II.**

Ein 48-jähriger Mann, der seit 2 Jahren an Ohrenfluß der rechten Seite litt, wurde am 15. Juni 1903 auf die Ohrenklinik (Hofrat Prof. Dr. Politzer) aufgenommen. 4 Tage vorher hatten sich plötzlich Erbrechen und Kopfschmerz eingestellt, die seitdem anhielten.

Die Untersuchung ergab am rechten Ohr eine fötide Eitersekretion und eine fast vollständige Zerstörung des Trommelfelles. Dabei zeigte der Patient Nackensteifigkeit und Exophthalmus, lallte und beantwortete keine der an ihn gestellten Fragen. Am linken Ohr hatte der Patient einen chronischen Adhäsionsprozeß mit zentraler Atrophie des Trommelfelles.

Noch am Tage der Aufnahme wurde der Patient operiert: Die Trommelhöhle war mit Cholesteatommassen und Eiter erfüllt, der Knochen am Tegmen tympani jedoch unverändert. Nach Incision der Dura und des rechten Schläfenlappens entleerte sich Liquor und Blut, der Patient aber blieb auch nach dem Erwachen aus der Narkose weiterhin schwer benommen und starb noch am gleichen Tage um 5<sup>h</sup> p. m.

Sektion am 16. Juni 1903, 15 Stunden nach dem Tode (Dr. Ghon).

Diagnose: Jauchig-eiterige Meningitis an der Basis des Gehirns nach chronischer Otitis der rechten Seite. Blutung in die inneren Hirnhäute des rechten Schläfenlappens und in seine Substanz (nach Incision).

Chronisches Lungenemphysem. Fettige Degeneration des Herzmuskels, trübe Schwellung der Leber und Nieren.

Die inneren Hirnhäute der Konvexität zart, stark gerötet, die der Basis, namentlich um das Chiasma, in den Sylvischen Furchen, über der Brücke und am rechten Kleinhirnschenkel von dickem, grünlich-gelbem, eiterigem, stinkendem Exsudat durchsetzt. Das gleiche Exsudat den inneren Hirnhäuten an den genannten Partien auch aufgelagert, ebenso dem rechten Nervus acusticus und facialis. Am rechten Schläfenlappen in den inneren Hirnhäuten größere dunkle Blutaustritte. Ungefähr in der Mitte der rechten unteren Schläfenwindung eine linsengroße Oeffnung, die in eine kleinbohnengroße, von dunkelroten geronnenen Blutmassen erfüllte Höhle des rechten Schläfenlappens führt. Um den rechten Meatus auditorius internus ist die Pachymeninx mit zarten, grau-rötlichen, abziehbaren Membranen bedeckt. Im rechten Sinus sigmoideus dunkles geronnenes Blut.

#### **Bakteriologischer Befund.**

Ventrikelflüssigkeit und Exsudat der Basis (steril entnommen):

Deckglaspräparate: In reichlicher Menge und fast ausschließlich gleichmäßig gramnegative Bacillen von verschiedener Größe (Taf. I, Fig. 8). Die Mehrzahl der Bacillen zeigte ziemlich kurze und etwas plumpe, ovale Formen, im allgemeinen viel größer als Influenzabacillen, und erschienen nicht gleichmäßig gefärbt. Daneben sah man kürzere, oft

kokkenartige und andere längere Formen, gleichmäßig schlank, gerade oder leicht gebogen, sowie auch mittellange, ziemlich plumpe und meist stark tingierte Bacillen. Fäden sah man nur spärlich und dann waren sie kurz. Einzelne der Bacillen erschienen noch zum Teil grampositiv.

Zwischen den beschriebenen Formen gab es Uebergangsbilder, so daß es den Eindruck machte, als handle es sich nur um eine Bakterienart. Eine bestimmte Lagerung der Bacillen zueinander war nicht erkennbar; sie lagen vorwiegend extracellulär.

#### Kulturen:

a) Agarplatten: steril.

b) Zuckeragar-Stich- und -Schüttelkulturen (anaërob):  
Ziemlich reichliches Wachstum anscheinend einer Bakterienart mit mäßig reichlicher Gasbildung.

Die weitere Untersuchung dieser Kulturen ergab, daß tatsächlich nur Kolonien einer Bakterienart vorhanden waren.

Diese Bakterienart war durch folgende Eigenschaften ausgezeichnet:

#### Morphologisches Verhalten.

In den Deckglaspräparaten vom Exsudat der Meningitis zeigte der Bacillus verschiedene Größen, vor allem in der Länge der Einzelformen (Taf. I, Fig. 8). Ueberwiegend waren jene Formen, die etwa Länge und Breite eines Typhusbacillus hatten. Daneben gab es kürzere Bacillen, ja selbst Formen, die fast kokkenartig aussahen. Andererseits wieder fanden sich Bacillen, die ziemlich lang waren. Die Bacillen hatten abgerundete Enden und waren meist gerade. Nur selten fand man Formen, die leicht gebogen erschienen.

In den Kulturen und zwar vor allem in den Traubenzuckeragarkulturen zeigten die Formen meist ein ziemlich eintöniges Bild: Gerade Stäbchen mit abgerundeten Enden, die in der Länge wohl variierten (1,50–3,50  $\mu$ ), im allgemeinen aber den schon in den Exsudatpräparaten gesehenen längeren Formen entsprachen. Die Breite der Bacillen unterlag geringen Schwankungen.

Fäden fanden sich in den Präparaten aus dem Meningealexsudat nur sehr spärlich und dann waren sie kurz und anscheinend ungegliedert. Nur hie und da machte es den Eindruck, als ob eine Andeutung von Gliederung vorlag. Ungleich häufiger konnte man Fäden in Kulturen nachweisen und zwar vorwiegend in älteren Kulturen. Die Länge der Fäden war dann meist eine sehr bedeutende, sie übertraf häufig den Durchmesser eines ganzen Gesichtsfeldes. Die Fäden waren gerade, häufiger noch gebogen, manchmal auch geschlungen und sowohl ungegliedert als auch gegliedert (Taf. I, Fig. 10).

Seltener fand man in Kulturen andere Formen, die verschieden geformte Anschwellungen zeigten und dadurch den Breitendurchmesser mehr oder weniger veränderten. Die Anschwellungen waren entweder spindelförmig oder mehr rundlich, dabei verschieden groß und lagen meist in der Mitte der Bacillen, seltener an einem oder dem anderen Ende. Manchmal sah man an einem längeren Bacillus mehrere solcher Anschwellungen hintereinander. Dadurch entstanden Gebilde, die Keulen, Birnen, Tonnen glichen oder rosenkranzähnlich waren (Taf. I, Fig. 9) und an jene Bilder erinnerten, die man ungleich häufiger bei dem Bacillus funduliformis sehen konnte.

Schließlich fand man sowohl in den Ausstrichpräparaten vom Hirn-

hautexsudate, vorwiegend aber in manchen Kulturen Formen, die wie aufgebläht aussahen oder ganz undeutlich waren.

Eine gesetzmäßige Abhängigkeit der beschriebenen Formen von der Art des Nährbodens war nicht nachweisbar. Immerhin war es außer Zweifel, daß die Bildung langer Fäden vornehmlich in älteren Kulturen erfolgte sowie in Traubenzuckergelatinekulturen und zwar in diesen auch dann, wenn sie jünger waren. Aber auch in sehr alten Kulturen war die Anzahl und Länge der Fäden manchmal gering. Doch waren dies seltenere Vorkommnisse. In flüssigen Nährmedien, wie Bouillon mit und ohne Zuckerzusatz, Peptonwasser etc. fanden sich häufig kürzere Formen, zum größeren Teile schlecht gefärbt. Formen mit Anschwellungen oder Auftreibungen (Spindel-, Birn-, Tonnenformen u. dergl.) sah man am reichlichsten und häufigsten in den Präparaten von Zuckeragarplattenkulturen (Taf. I, Fig. 9). Nährböden mit Zusatz von Hydrokelen- oder Ascitesflüssigkeit, Blut oder sterilem Muskel ließen keine besonderen Formen erkennen.

Ein Einfluß der Alkaleszenz auf die Entwicklung der verschiedenen Formen war insofern erkennbar, als bei neutraler Reaktion vorwiegend kürzere Formen nachweisbar waren, die bei Zunahme der Alkaleszenz mehr und mehr längeren Formen und Fäden Platz machten und als andererseits schon bei geringem Säuregehalt des Nährbodens die Fadenbildung eine auffallend reichliche war.

Eine Abhängigkeit der Formen von der Temperatur, bei der die Kulturen aufbewahrt wurden, konnte von uns nicht mit Sicherheit nachgewiesen werden.

Der Bacillus ließ sich mit den gebräuchlichen Farbstoffen leicht tingieren. Am besten eigneten sich zur Darstellung Fuchsinlösungen. Die Färbung der Bacillen war dabei entweder eine gleichmäßige oder aber eine ungleichmäßige. Bei kurzen Formen fand man häufig eine schöne bipolare Färbung, bei längeren Formen zeigte meist die Mitte eine stärker gefärbte Stelle. Scheinbar handelte es sich bei diesen längeren Formen um Doppelstäbchen, deren Teilung noch nicht vollendet war. Bei kürzeren Fäden konnte man entsprechend zahlreicher solche stärker tingierte Stellen sehen. In Präparaten, die mit Methylenblaulösungen gefärbt waren, kam diese körnchenartige Färbung der Formen manchmal in ganz besonders deutlicher Weise zum Ausdruck. Längere Fäden waren oft auf ziemlich weite Strecken schwach tingiert oder ganz ausgesprochen segmentiert. Die Formen mit Anschwellungen zeigten gegenüber der Intensität der Färbung ein ganz ungleiches Verhalten. Im allgemeinen waren sie blaß gefärbt, manchmal aber gleichmäßig intensiv oder derart, daß an einer oder der anderen Stelle die Färbung stärker war als im übrigen Bakterienkörper. Am schönsten zeigten dieses Verhalten die kürzeren, wie gebläht aussehenden Formen.

Das Verhalten zur Methode von Gram war kein gleichmäßiges. In den Präparaten vom Gehirnhautexsudate waren die Formen fast durchaus gleichmäßig gramnegativ. Nur ab und zu fand man Formen, die eine oder die andere noch violett gefärbte Stelle aufwiesen. In den älteren Kulturen waren die Bacillen gramnegativ, in jüngeren dagegen fand man nicht gerade selten Formen, die gleichmäßig violett waren oder aber häufiger Formen, die dunkelviolette Körnchen erkennen ließen. Ihrer Lagerung nach entsprachen diese Körnchen jenen schon oben beschriebenen. Mitunter fand man auch in den Fäden Teile dieser noch violett gefärbt. Da es immer gerade gut entwickelte Formen

waren, die violett blieben und da diese zahlreicher wurden, wenn die Kulturen jung waren, sind wir zur Ueberzeugung gekommen, daß der *Bacillus* eigentlich grampositiv sei, aber ungemein rasch der Methode von Gram gegenüber ein Verhalten annehme, wie es sonst nur Degenerationsformen zukomme.

Sehr deutliche Bilder der Einzelformen erhielt man in den mit Jod behandelten Präparaten. Die Begrenzung der Bacillen und ihr reiner Stäbchentypus kamen in diesen Präparaten am schönsten zum Ausdruck.

Häufig sah man auch, daß die Mitte des *Bacillus* heller war als ihre Pole. Die Bacillen waren in diesen Präparaten meist gleichmäßig lichtgelb. Eine Braunfärbung konnte nur selten nachgewiesen werden. Sie war dann entweder eine gleichmäßige oder ausgesprochen segmentierte. Blaufärbung sahen wir niemals, auch nicht in Kulturen, denen Muskelsubstanz zugesetzt war.

Eine bestimmte Lagerung der Bacillen zueinander konnte man im allgemeinen nicht erkennen. Nur in jungen Kulturen sah man öfters Parallel- oder Winkelstellung der Bacillen.

Der *Bacillus* zeigte Eigenbewegung. Diese war eine ziemlich rasche und leicht nachweisbare.

Sporen konnten wir niemals sehen. Wir untersuchten daraufhin die verschiedensten Kulturen. Ob es sich bei den Formen, die die oben beschriebenen Anschwellungen zeigten, um Vorstadien der Sporenbildung handelte, wagen wir nicht zu entscheiden. Da wir gerade solche Formen auch bei anaëroben Bakterien sahen, die sicher keine Sporen bilden, wurden wir in unserer Annahme bestärkt, daß diese Formen auch bei dem hier beschriebenen *Bacillus* viel wahrscheinlicher Degenerationsformen darstellen.

### Kulturelles und biochemisches Verhalten.

Die isolierte Bacillenart ist ein streng anaërober Mikroorganismus, der sich in den von uns wiederholt ausgeführten Versuchen unter aeroben gewöhnlichen Bedingungen nicht kultivieren ließ.

Oberflächenkolonien (Taf. II. Fig. 11) auf Agarplatten mit 1 Proz. Traubenzucker (Wasserstoffatmosphäre) erreichten einen Durchmesser bis 2 mm und darüber, waren etwas erhaben und rund, im auffallenden Lichte weißlich und glänzend. Sie ähnelten im makroskopischen Aussehen Kolonien der Gattung *Micrococcus pyogenes*. Im durchfallenden Lichte erschien der zentrale Teil opak, die Peripherie hell, bei Lupenvergrößerung die Randpartie wie feinst gestiebelt. Mikroskopisch zeigten die Kolonien bei schwacher Vergrößerung ein gelbbraunes Kolorit und waren dunkler im Zentrum als in der Peripherie. Häufig sah man in den zentralen Partien grobschollige Auflagerungen. Der Rand war aufgefaset und ließ bei stärkerer Vergrößerung deutlich Bacillen und kurze Fäden erkennen, die ohne bestimmte Anordnung zueinander lagen. Im übrigen erschien der periphere Anteil der Kolonien häufig ähnlich grob gekörnt wie jener bei den Kolonien der Diphtheriebacillen.

Manchmal wich das Aussehen der Oberflächenkolonien etwas von dem eben geschilderten ab. Die zentrale Partie war dann im durchfallenden Lichte bräunlich, die breitere Peripherie transparent, moireeartig glänzend. Im mikroskopischen Bilde zeigten solche Kolonien um das dunkelbraune Zentrum eine helle, bräunlichgelbe, periphere Zone, die eine deutliche Andeutung einer welligen Zeichnung erkennen ließ.

Im großen und ganzen waren die Oberflächenkolonien leicht und schön isoliert zu erhalten.

Die Tiefenkolonien waren wohl verschieden groß, im allgemeinen aber klein und meist maulbeerartig. Mikroskopisch waren sie schwärzlichbraun und zeigten in ihrer Umgebung nicht selten kleine, etwas hellere Tochterkolonien und manchmal kleine Gasbläschen.

Stichkulturen in Traubenzuckeragar (1—2 Proz. Traubenzucker) zeigten Wachstum entlang dem ganzen Impfstiche, meist in Form eines grauweißen Bandes (Oesenimpfung). Fast niemals hatte dieses Wachstum ein gleichmäßiges Aussehen, sondern ließ dichter bewachsene Stellen neben schlechter bewachsenen erkennen und zwar in ganz unregelmäßiger Anordnung. Die Ränder der Impfstiche waren nicht sehr scharf begrenzt. Fast immer konnte man neben den Impfstichen eigentümliche Ausläufer sehen, besonders in Kulturen, die in weichem Agar angelegt waren (1 Proz. Agar). Diese Ausläufer hatten häufig ein sichelförmiges Aussehen, die konkave Seite nach oben gerichtet und standen senkrecht zum Impfstich. Es machte den Eindruck, als ob das Wachstum dieser Ausläufer in einem vorgebildeten Spalt des Nährbodens (Gasentwicklung) erfolgt war (Textfig. 3).

War das Wachstum derart, daß voneinander isolierte Kolonien im Impfstiche angingen, so waren diese meist klein, punktförmig bis hanfkorn-groß, scharf begrenzt oder häufiger von einem nebeligen Hof umgeben, manchmal auch von ganz unregelmäßiger Gestalt.

Wurde die Kultur in hoher Schicht angelegt und nicht überschichtet, so erfolgte das Wachstum erst ungefähr  $\frac{1}{2}$  cm unterhalb der Oberfläche; wenn dabei die Gasbildung eine kräftige und der Agar nicht sehr fest war, so konnte man auf der Oberfläche oft eine dünne Schicht trüber Flüssigkeit angesammelt sehen. Diese Flüssigkeitsschicht fand sich in noch reichlicher Menge auch in den Kulturen, die überschichtet waren, und zwar dann, wenn der sie deckende Agarpfropf durch die reichliche Gasbildung emporgehoben war.

Die Gasbildung war in den Traubenzuckeragarstichkulturen eine verschieden starke.

Schüttelkulturen in Zuckeragar zeigten eine gleichmäßig diffuse Trübung, wenn die Aussaat eine reichliche, hingegen einzeln stehende Kolonien verschiedener Größe, wenn die Aussaat eine entsprechend verdünnte war. Die Kolonien hatten ein gleiches Aussehen wie die in Zuckeragarstichkulturen. Die Gasbildung war meist eine reichliche, zeigte aber ebenfalls Schwankungen.

Agarkulturen mit Zusatz von Rohr- oder Milhzucker (2 Proz.) zeigten ein Wachstum, das dem in Traubenzuckeragar ähnlich war. Doch ergaben unsere Versuche, daß Kulturen in Rohrzuckeragar im allgemeinen weniger üppig waren als die in Trauben- oder Milhzuckeragar. Dagegen war die Gasbildung in Rohrzuckeragarkulturen meist sehr stürmisch und immer stärker als in Kulturen mit Zusatz von Milhzucker. Auch dann, wenn die Entwicklung der Kulturen in



Fig. 3.

Milchzuckeragar eine ungemein üppige war, erfolgte Gasbildung oft erst spät und in geringer Menge.

Agarkulturen ohne Zusatz von Zucker zeigten ähnliche Wachstumsverhältnisse wie die mit Zuckerzusatz, nur war die Gasbildung in den Kulturen meist eine geringe.

Zuckeragar mit Blut gemengt ließ eine besondere Förderung im Wachstum und in der Gasentwicklung nicht erkennen. Die Oberflächenkolonien, die in Platten mit solchem Nährboden angingen, waren nicht größer als die Kolonien, die wir in Zuckeragarplatten erhalten konnten. Sie zeigten aber einen schmutzig-gelben Farbenton. Die Farbe des Nährbodens hingegen wurde nicht verändert, weder in den Plattenkulturen noch in Stich- bzw. Schüttelkulturen in hoher Schicht.

Plattenkulturen in Gelatine mit 1 Proz. Traubenzucker, die bei 23—24° C gestanden waren, zeigten nach mehreren Tagen große Kolonien, die makroskopisch einen ca. 1 mm im Durchmesser haltenden bräunlichen, zentralen Kern erkennen ließen und einen verschieden breiten, nebelig aussehenden, unscharf begrenzten Hof von bräunlicher oder schwärzlich-brauner Farbe. Bei Lupenvergrößerung erschien dieser Hof wie aus zahlreichen kleinsten Pünktchen zusammengesetzt, die nach außen zu an Dichtigkeit und Zahl abnahmen. Mikroskopisch war bei schwacher Vergrößerung der zentrale Anteil der Kolonie maulbeerartig, hell- oder dunkelbraun, der periphere Anteil bestand aus zahlreichen kleinen Tochterkolonien, die rund oder rundlich, glattrandig und hellbraun aussahen. Selten fand man Kolonien, die nur wenige Tochterkolonien zeigten. Sie waren dann rosettenartig und hatten scharfen Rand.

In Traubenzuckergelatinekulturen, die bei 37° C gehalten wurden, sah man nach 24 Stunden unterhalb des überschichtenden Agarpfropfes (Wasseragar) eine wolkige Trübung, während der übrige Teil der Nährlösung noch klar erschien. Nach 36 Stunden hatte die Trübung zugenommen und sich auch nach unten zu ausgebreitet. Gleichzeitig erschienen zahlreiche kleinere oder gröbere Flocken in der Gelatine, die sich zunächst schwebend erhielten, dann aber langsam zu Boden sanken, so daß oft schon nach 48 Stunden, meist aber etwas später, die Gelatine völlig klar wurde, während sich am Boden der Epruvette ein mehr oder weniger reichlicher wolkiger Satz angesammelt hatte.

Gasbildung erfolgte fast stets, doch war sie in der Regel weniger reichlich als in den Traubenzuckeragarkulturen.

In Traubenzuckergelatine, die bei 21—22° C gehalten wurde, erfolgte die Entwicklung sehr langsam; meist erst nach vielen Tagen (8—10) oder gar erst nach Wochen sah man bei Stichkulturen entlang dem Impfstiche ein grauweißes bandförmiges Wachstum. Manchmal erschien dieses Band aus kleinsten punktförmigen Kolonien zusammengesetzt. Bei Lupenvergrößerung waren die Einzelkolonien etwa stecknadelkopfgroß, rundlich und zeigten keine besonderen Eigenschaften. Nicht selten war die Gelatine in der Umgebung des Stichkanales schwärzlich-braun gefärbt. Manchmal verbreitete sich diese Färbung über den ganzen Nährboden.

In Schüttelkulturen mit entsprechender Verdünnung zeigte sich entweder eine diffuse Trübung des Nährbodens, wenn die Aussaat eine sehr reichliche war, oder aber es erschienen — gleichfalls sehr spät — Einzelkolonien, die die Größe eines Stecknadelkopfes und darüber erreichten, rundlich und weißlich-grau gefärbt waren oder leicht schwärzlich erschienen, wenn der Nährboden die oben genannte Färbung zeigte.

Gasbildung konnten wir in den Traubenzuckergelatinekulturen, die bei 21—22° C gehalten wurden, nicht beobachten.

In Gelatine ohne Traubenzucker war das Wachstum ein ähnliches, doch etwas geringer und die Gasbildung erfolgte meist später und nicht so reichlich.

Verflüssigung der Traubenzuckergelatine und der gewöhnlichen Gelatine war in den Kulturen, die bei 21—22° C beobachtet wurden, auch dann nicht nachweisbar, wenn die Dauer der Beobachtung sich über viele Wochen erstreckt hatte. Die Kulturen, die bei 37° C gehalten wurden, erstarrten wieder rasch, wenn sie in kaltes Wasser gestellt wurden und zwar auch dann noch, wenn der Aufenthalt im Brutofen 8—10 Tage lang gewährt hatte. Wurden die Kulturen aber noch länger im Brutofen gelassen, 12—14 Tage und darüber, so erstarrten sie nicht mehr, wenn man sie in kaltes Wasser stellte, während Kontrollzuckergelatinen prompt erstarrten. Ein die Gelatine verflüssigendes Ferment scheint also erst nach längerer Zeit gebildet zu werden.

In Fleischbrühe mit 1 Proz. Traubenzucker (langhalsiger Kolben) war schon nach 24—48 Stunden (37° C) eine üppige diffuse Trübung sichtbar mit mächtiger Schaumbildung an der Oberfläche und ständigem Aufperlen von Gasblasen. Die Gasbildung nahm in den nächsten Tagen noch zu und hörte nach ungefähr 5 Tagen auf. Um diese Zeit begann auch die Schumschicht an der Oberfläche der Kultur zu schwinden. Die Fleischbrühe wurde klar, am Boden der Kultur hatte sich ein reichlicher feinflockiger Satz angesammelt.

In Bouillon ohne Zuckerzusatz (Ueberschichtung mit Wasseragar) entstand eine zunächst zarte, diffuse Trübung, die später üppiger wurde. Nach einigen Tagen klärte sich die Nährlösung, während sich am Boden in mäßiger Menge ein feinflockiger Satz niedergeschlagen hatte. Gasbildung konnten wir nicht beobachten.

Ähnliche Veränderungen zeigten auch die Peptonwasserkulturen.

In eiweißfreien Nährlösungen nach Uschinsky konnte Entwicklung nicht erzielt werden, auch dann nicht, wenn diesen 2 Proz. Traubenzucker zugesetzt wurde. Wohl aber fand Wachstum statt, wenn der Nährlösung von Uschinsky 2 Proz. Pepton zugefügt wurde, doch war die Entwicklung keine sehr üppige und meist erst spät auftretend. Sie zeigte sich als zarte diffuse Trübung und geringe wolkige Satzbildung. Gasbildung war nicht zu beobachten.

Milchkulturen erlitten durch das Wachstum des Bacillus keine makroskopisch erkennbaren Veränderungen. In unseren Versuchen, deren Beobachtung bis zu 4 Monaten währte, erfolgte niemals Gerinnung, gleichgültig, ob die Kulturen in Erlenmeyers Kolben, in langhalsigen Kölbchen oder in hoher Eprouvette mit Ueberschichtung angelegt waren. Deckglaspräparate von den Kulturen ließen jedoch das erfolgte Wachstum deutlich erkennen. Nur selten sah man spärliche Gasbildung in den Kulturen, am ehesten in den überschichteten. Die Kulturen zeigten einen schwachen, aber deutlich erkennbaren Geruch nach Buttersäure und schwach saure Reaktion.

Kulturen in erstarrter Hydrokelen- oder Ascitesflüssigkeit zeigten kein gleichmäßiges Aussehen. Im allgemeinen war das Wachstum ein ziemlich gutes, verbunden häufig mit mehr oder weniger reichlicher Gasbildung und langsamer Verflüssigung des Nährbodens. Diese war jedoch niemals eine vollständige, auch wenn die Kulturen viele



Monate lang beobachtet wurden ( $37^{\circ}$  C). Manchmal blieb Gasbildung und Verflüssigung ganz aus oder war nur in geringem Maße vorhanden ohne Zeichen von Progredienz. Häufig sah man auch eine Schwärzung des Nährbodens und der Impfstiche; diese war dann immer intensiver als jene. Besonders deutliche Schwärzung ließen jene Kulturen erkennen, die Verflüssigung zeigten.

In Gehirnnährböden von v. Hibler erfolgte Schwärzung und Gasbildung unterhalb des überschichtenden Agarpfropfes.

In Zuckerfleischbrühekulturen (2 Proz. Traubenzucker) ließ sich Indol nur in geringer Menge nachweisen, dagegen sehr reichlich Schwefelwasserstoff. Auch Aethylalkohol fand sich reichlich. Essigsäure konnte nur in sehr geringen Mengen gefunden werden und zwar nur in jungen Kulturen. Buttersäure war stets reichlich zu finden, dagegen Milchsäure nur in geringen Mengen und nicht gleichmäßig in den verschieden alten Kulturen.

Tabelle.

Fleischbrühe mit 1 Proz. Traubenzucker				
Alter:	4 Tage	8 Tage	13 Tage	21 Tage
Reaktion:	sauer	sauer	leicht sauer	sauer
Indol:	Spuren	negativ	Spuren	Spuren
Schwefelwasserstoff:	sehr reichlich	sehr reichlich	sehr reichlich	sehr reichlich
Aceton:	negativ	negativ	negativ	negativ
Aethylalkohol:	zieml. reichlich	reichlich	reichlich	spärlich
Essigsäure:	Spuren!	negativ	negativ	negativ
Buttersäure:	reichlich	sehr reichlich	sehr reichlich	reichlich
Milchsäure:	spärlich	reichlich	Spuren	spärlich

Eine Milchkultur (Erlenmeyer-Kolben), die 3 Monate bei  $37^{\circ}$  C gestanden hatte, zeigte saure Reaktion, einen nicht charakteristischen säuerlichen Geruch, eine Spur von Indol, mäßig viel Schwefelwasserstoff, ziemlich reichlich Aethylalkohol, reichlich Buttersäure und eine Spur Milchsäure. Aceton und Essigsäure waren nicht vorhanden.

In Traubenzuckeragar mit Zusatz von 0,1 Proz. indigoschwefelsaurem Natrium erfolgte üppiges Wachstum mit rascher und gänzlicher Entfärbung des Nährbodens und reichlicher Gasbildung. Auch bei Zusatz von 1 Proz. indigoschwefelsaurem Natrium war Entwicklung noch nachweisbar, doch ohne Gasbildung und die Entfärbung des Nährbodens erfolgte langsamer und war erst nach mehr als 48 Stunden zu erkennen.

Auch in Traubenzuckeragar mit Zusatz von 1 und 3 Tropfen von Neutralrotlösung (konzentriert) trat unbehindert Wachstum auf mit rascher Entfärbung und reichlicher Gasbildung. (Forts. folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Ueber die Reinkulturen des fusiformen Bacillus.

[Aus der Universitätskinderklinik des Prof. Jakubowski und der bakteriologischen Anstalt des Prof. Nowak in Krakau.]

Von Privatdozenten Dr. **Xaver Lewkowicz.**

Mit 1 Tafel.

Anderorts (1) berichte ich ausführlicher über meine Untersuchungen; hier beabsichtige ich, nur eine kurze Darstellung meiner bisherigen Resultate bekannt zu geben.

Der als normaler Einwohner der menschlichen Mundhöhle (Miller), als wahrscheinlicher ätiologischer Faktor gewisser Formen von Rachenentzündung (Plaut, Vincent), von ulceröser Stomatitis (Bernheim), von Spitalbrand (Vincent) und gewisser mit den pathologischen Prozessen der Mundhöhle im Zusammenhange stehender Eiterungen schon lange bekannte fusiforme Bacillus kann, wie ich es als Erster im Jahre 1903 (2) bewiesen habe, in Reinkulturen erhalten werden. Ueber ein Jahr nach meiner ersten Publikation ist eine vorläufige Mitteilung von Ellermann (3) erschienen. Seinen eventuellen Prioritätsansprüchen gegenüber muß ich betonen, daß über meinen Artikel ein ausführliches Referat im Bulletin de l'Institut Pasteur, welches wohl jedem Bakteriologen zugänglich sein dürfte, erschienen ist.

Die künstliche Züchtung des fusiformen Bacillus gelingt ohne größere Schwierigkeit unter der Bedingung, daß man zum Nährboden eine womöglich stark eiweißhaltige Ascitesflüssigkeit (nach Ellermann Pferdeserum) zusetzt und den Sauerstoffzutritt eliminiert. Am besten eignet sich dazu die von Veillon angegebene, von Rist (4) in seinem zusammenfassenden Referate genau beschriebene Methode, die aber dahin modifiziert sein muß, daß nicht der gewöhnliche, sondern ein mit Serum versetzter Zuckeragar in Anwendung gebracht wird. In der erstarrten Säule dieses Nährbodens sind die tieferen Schichten, 12–15 mm von der freien Agaroberfläche angefangen, sauerstofffrei, die oberen sauerstoffhaltig. Nur in der sauerstofffreien Zone kann man Wachstum des fusiformen Bacillus erzielen. Der Mikroorganismus ist also ein strikter Anaërobe. Der Serumzusatz ist auch unentbehrlich. Wenn man in drei Röhrchen, von denen die zwei ersten Zuckeragar, das letzte Zuckeragar mit Serum enthalten, Verdünnungen macht, so werden sich nur in dem dritten Röhrchen Kolonien entwickeln, obwohl hier die Bacillen in spärlichster Menge eingepflanzt worden sind. Das zweite Röhrchen wird immer steril bleiben. In ersten können sich einige Kolonien entwickeln, und zwar deshalb, weil hier das aus einem serumhaltigen Nährboden entnommene Material direkt eingepflanzt wurde, wobei eine gewisse Beimischung des Serums nicht zu vermeiden war. Die Dürtigkeit des Serums hat aber ein atypisches Wachstum der Kolonien (Fig. 10) zur Folge. Der Mikroorganismus wächst nur bei Körpertemperatur.

Der Bacillus zeichnet sich durch eine ziemlich große Polymorphie aus (Fig. 1–8). Nur aus ganz jungen Kulturen erhalten wir gewöhnlich regelmäßig geformte Stäbchen mit abgerundeten Enden im Uebergewicht. Manchmal sind die Bacillen ausgeprägt spindelförmig. Den Bacillen gesellen sich oft ziemlich zeitig lange fadenförmige oder lange

spindelförmige, spitz gegen die Enden zulaufende Gebilde. Die Größe ist, wie das aus der Tafel zu entnehmen ist, ziemlich schwankend. Die Bacillen verbinden sich oft paarweise.

Die Färbbarkeit ist schwach und höchstens in ganz jungen Kulturen gleichmäßig. Meistens tritt eine ganz ausgeprägte Scheckigkeit oder Querstreifung deutlich zu Tage. Die Gramsche Färbung fällt immer negativ aus.

Die Eigenbewegungen fehlen. Der Bacillus bildet keine Sporen und ist auch gegen Einwirkung höherer Temperaturen äußerst empfindlich.

Die Ueberimpfbarkeit scheint ziemlich beschränkt zu sein und kann auf zwei Wochen geschätzt werden. In den Nährböden bei 37° kann sie sich längere Zeit, bis 6 und 8 Wochen, erhalten, wenn langsames Wachstum nicht ausgeschlossen ist.

In Serumzuckeragar erscheint nach sehr üppiger Impfung schon nach 24 Stunden eine aus mikroskopischen Kolonien bestehende Trübung der sauerstofffreien Zone. Gut separierte Kolonien kann man aber erst nach 2—3 Tagen ausfindig machen. Solche Kolonien wachsen durch 1—2 Wochen und können dann 1—2 mm Durchmesser erreichen. Sie sind rundlich, haben oft eine höckerige, manchmal mit kurzen haarförmigen Ausläufern versehene Oberfläche. Zu Anfang, wenn sie noch mikroskopisch sind, durchscheinend, werden sie dann mehr und mehr undurchsichtig (Fig. 11). Makroskopisch sind sie gelblichgrau. Die Kolonien des oberen Grenzringes entwickeln sich sehr oft besser als die tieferen. Sie weisen außerdem manchmal ein sehr charakteristisches Wachstum auf (Fig. 9 und 12—14). Man sieht sie, vom 5. Tage anfangen, gegen die freie Agarfläche Bündel von Ausläufern entsenden, die dann im Laufe von 1—2 Monaten über die Kolonie in ein himmeltragartiges Gebilde zusammenfließen.

In Zuckeragar entstehen, wie oben erwähnt, atypische, moosartig verzweigte Kolonien (Fig. 10).

Auf Serumzuckeragar im Vakuum erhält man einen gleichmäßigen graulichen Belag, oder wellenförmig konstruierte, auf der Oberfläche mit feinen Adern versehene, manchmal wiederum rundliche und glatte Kolonien.

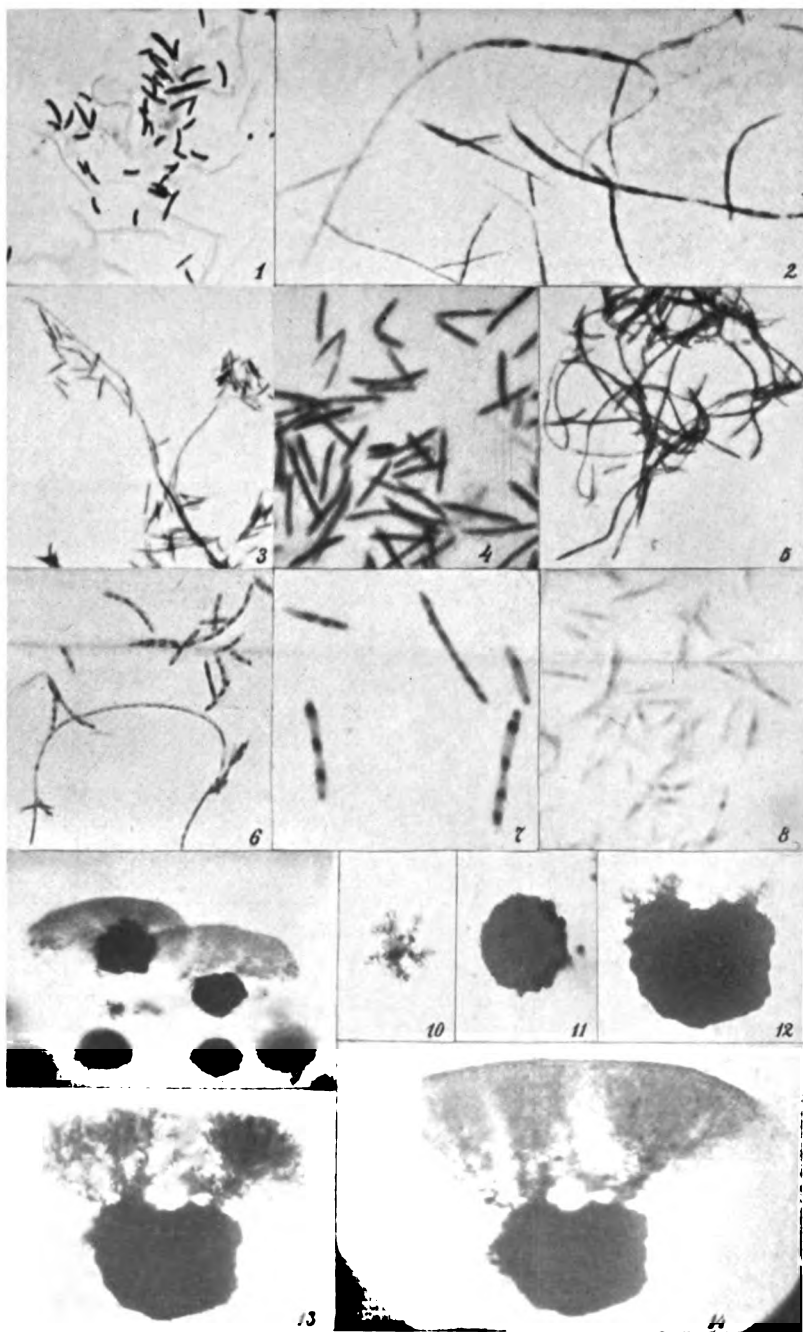
Die Kulturen des fusiformen Bacillus haben einen charakteristischen, widerlichen, schwer zu bezeichnenden Geruch.

Der Mikrobe ist für Versuchstiere pathogen und tötet sie je nach der Dosis nach kürzerer oder längerer Zeit durch Vergiftung. Er geht nämlich in Organismus der Tiere sehr bald zu Grunde — selbst an der Impfstelle läßt er sich nach 36 Stunden weder mikroskopisch noch kulturell nachweisen — es sind daher nur die chemischen Giftstoffe, die den Tod des Tieres herbeiführen. Bei Mäusen und Meerschweinchen lassen sich nach dem Tode keine Veränderungen an der Impfstelle oder den inneren Organen nachweisen. Bei Kaninchen entwickelt sich nach subkutaner Einverleibung lokal Eiterung. Die Einführung in die Mundhöhle gesunder Kinder hat negative Resultate ergeben.

#### Literatur.

- 1) Lewkowicz, Die Reinkulturen des Bacillus fusiformis. (Extrait du Bulletin de l'Académie des Sciences de Cracovie. Classe de sciences math. et naturelles. Décembre 1905.)
- 2) — —, O czystych hodowlach prątka wrzeczionowego, zarazka wrzodnego zapalenia jamy ustnej. Vorläufige Mitteilung. (Przegląd lekarski. 1903. p. 197. Referat in Bulletin de l'Institut Pasteur. T. I. p. 825.)





- 3) Ellermann, Ueber die Kultur der fusiformen Bacillen. (Centralbl. für Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVII. p. 729.)
- 4) Rist, Neue Methoden und neue Ergebnisse im Gebiete der bakteriologischen Untersuchung gangränöser und fötider Eiterungen. (Ebend. Bd. XXX. 1901. No. 7.)

#### Tafelerklärung.

- Fig. 1. Belag aus einem Falle von Stomatitis ulcerosa. Vergr. 1000:1.  
 Fig. 2—8. *Bacillus fusiformis* aus Reinkulturen. 2—7 aus Serumzuckeragar, 8 aus Serumzuckerbouillon. 2 eintägige, 3 zweitägige, 4 dreitägige, 5 viertägige, 6 fünftägige, 7 sechstägige, 8 zwölftägige Kultur. 2, 3, 5 und 6 Vergr. 1000:1, 4, 7 und 8 Vergr. 2000:1. Färbung mit 1-proz. alkoholisch wässriger Fuchsinlösung mit Anwärmung.  
 Fig. 9. Eine einmonatliche Kultur in Serumzuckeragar, Kolonien des oberen Grenzringes. Vergr. 10:1.  
 Fig. 10. Eine 2-wöchentliche Kultur in Zuckeragar ohne Serum, eine Kolonie aus der Tiefe. Vergr. 10:1.  
 Fig. 11. Eine 2-wöchentliche Kultur in Serumzuckeragar, eine große Kolonie, daneben kleinere. Vergr. 15:1.  
 Fig. 12. Eine 2-wöchentliche Kolonie 2 cm unterhalb der Oberfläche des Serumzuckeragars. 10:1.  
 Fig. 13. Dieselbe, 1 Monat alt.  
 Fig. 14. Dieselbe, 2 Monate alt.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber Choleravibrionen und andere pathogene Vibrionen.

### I. Ueber die Beziehungen der Vibrionen El Tor zu dem Choleravibrio.

[Aus dem staatl. serotherapeutischen Institute in Wien.  
 Vorstand: Prof. R. Paltauf.]

Von Privatdozent Dr. R. Kraus und Dr. E. Přibram.

(Schluß.)

### Ueber Antihämotoxine, gewonnen mit dem Hämotoxin der ElTorvibrionen und des *Vibrio Nasik*.

Die weiteren Versuche mußten darauf hinausgehen, den Beweis zu erbringen, daß die von den El Torstämmen produzierten Gifte das Hämotoxin und das akut wirkende Toxin als Toxine aufgefaßt werden dürfen. Der Nachweis wurde auf dem Wege der Immunisierung geführt, indem es gelang, gegen beide Gifte Antitoxine im Organismus hervorzurufen, die normalerweise gar nicht oder nur in geringen Mengen vorhanden sind. Bevor wir an die Immunisierung gingen, konnten wir uns überzeugen, daß im Serum normaler Ziegen, Pferde, Kaninchen kein Antihämotoxin gegen das Hämotoxin der ElTorvibrionen vorhanden ist. Das Serum einiger gesunder Ziegen und Pferde vermochte selbst in Mengen von 0,5 ccm die Hämolyse bei gleichzeitigem Zusatz des Hämotoxins nicht zu verhindern. Auch Serum von mit Cholerastämmen Pfeiffers vorbehandelten Pferden, welche Agglutinine und Antikörper enthielt, verhielt sich wie ein normales Pferdeserum. Dagegen gelingt es mit Seris, welche von Tieren (Ziegen, Kaninchen) herrühren, die mit dem Hämotoxin (Bouillonkultur) der El Torvibrionen vorbehandelt sind, das Hämotoxin dieser Stämme mit tausendfachen Verdünnungen des Serums zu neutralisieren. Ein Serum, gewonnen

mit dem Hämotoxin eines Stammes, neutralisiert auch das Hämotoxin der anderen Stämme.

Bisher war es feststehend, daß Hand in Hand mit der Spezifität der biologischen Reaktionen (Agglutination, Pfeifferscher Versuch) auch die Antitoxinwirkung spezifisch sei, indem nur das zugehörige Toxin neutralisiert wird und kein anderes. Wohl hat Zupnik (14) Anschauungen geäußert, wonach sowohl Agglutinin als auch das Antitoxin bloß ein Gruppenreagens darstellen und nicht eine Artspezifität anzeigen. Doch hat Zupnik für die Annahme keine strikten Beweise erbracht.

Dagegen finden sich hierfür Anhaltspunkte in der angeführten Arbeit Meinickes. Im Gegensatz zu den Versuchen von Kolle und Gottschlich, aus welchen hervorgeht, daß ein Serum, gewonnen mit einem choleraähnlichen *Vibrio*, bloß diesen, selten einen anderen *Vibriostamm* agglutiniert, konnte Meinicke mit Seris, gewonnen mit einem *Vibriostamm*, nicht nur das Hämotoxin des zugehörigen Stammes, sondern auch das einzelner anderer Stämme neutralisieren. So neutralisierte Serum 31 auch das Hämotoxin des Stammes 34, das Serum des *Vibrio Metschnikoff* das Hämotoxin des *Vibrio Nordhafen*. Meinicke glaubt auf Grund dieser Versuche zu einem natürlichen System der Vibrionen zu gelangen, so wie es bereits C. Prausnitz, Kolle und Gottschlich versucht haben. Unsere Versuche zeigen demgegenüber, daß mit dem Antihämotoxin eines *Vibriostammes* Hämotoxine choleraähnlichen Vibrionen neutralisiert werden.

Zunächst geht aus unseren Versuchen (Tabelle) mit voller Sicherheit hervor, daß das Antihämotoxin der El Torstämme nicht nur das Hämotoxin dieser Stämme neutralisiert, sondern auch das des *Vibrio Nasik*. Umgekehrt vermag das Antihämotoxin, gewonnen mit dem *Vibrio Nasik*, die Hämotoxine der El Torstämme zu neutralisieren. Trotzdem der *Vibrio Nasik* mit Sicherheit vom *Cholera*vibrio zu unterscheiden ist, wie in einer früheren Arbeit l. c. mitgeteilt wurde und wie aus den vorangehenden Versuchen hervorgeht, produziert er ein Hämotoxin, welches nach dem Ausfall des Antitoxinversuches identisch

Verdünnung	Das Serum gewonnen mit	1 f. lösende Menge des Hämotoxins St. IV	1 f. lösende Menge des Hämotoxins St. V	1 f. lösende Menge des Hämotoxins St. Nasik
0,001 0,0005	Stamm El Tor V	Keine Hämolyse Partielle Hämolyse	Keine Hämolyse Hämolyse	Spur Hämolyse Partielle Hämolyse
0,001 0,0005 0,0001	Stamm IV	Spur Hämolyse Hämolyse "	Hämolyse " "	Keine Hämolyse Partielle Hämolyse
0,001 0,0005 0,0001	<i>Vibrio Nasik</i>	Keine Hämolyse "Hämolyse"	Keine Hämolyse "Hämolyse"	Keine Hämolyse "Hämolyse"
0,005 0,001 0,0005	Stamm El Tor I	Keine Hämolyse " " " "	— — —	Keine Hämolyse Hämolyse
0,001 0,0005	Stamm El Tor V	Keine Hämolyse Hämolyse	Keine Hämolyse Hämolyse	Spur Hämolyse
0,005 0,001	Stamm El Tor IV	Keine Hämolyse Hämolyse		Keine Hämolyse Hämolyse





## 3. Aderlaß am 5. Dezember.

0,5 ccm Serum	+	0,5 ccm Toxin St. V	gemischt, sofort intravenös, K. 272 lebt,
0,1 "	"	0,5 " " " V	" " " " 412 "
0,05 "	"	0,5 " " " V	" " " " 51 † in 1 Std.
0,5 "	"	0,5 " " " V	getrennt, " " " 51 lebt,
0,1 "	"	0,5 " " " V	" " " " 471 † in 30'

In einer Arbeit über das Dysenterieantitoxin (15) wurde gezeigt, daß die Avidität eines Antitoxins nicht von dessen Wertigkeit abhängig sei und daß man im Laufe der Immunisierung Sera gewinnen kann, die anfangs nur bei Mischung zum Gift sich als wirksam erweisen, später bei getrennter Injektion kurative Eigenschaften annehmen können. Anfangs sind solche Sera nicht im stande, Tiere nach Vergiftungen zu heilen, da sie ja bloß Gift bei direkter Einwirkung zu paralisieren vermögen. Ein Analogon finden wir auch hier. Obwohl das Antitoxin beim 2. Aderlaß bereits sofort das Gift zu neutralisieren im stande ist, vermag es bei getrennter gleichzeitiger Injektion nicht zu wirken, und erst nach weiterer Immunisierung nimmt es kurative Eigenschaften an.

## 2. Versuch. Ziege 15, welche mit Toxin des Vibrio Nasik vorbehandelt wurde.

## 1. Aderlaß am 17. September.

0,5 ccm Serum + 1,0 ccm Toxin V intravenös sofort K. 469 †

## 2. Aderlaß am 2. November.

0,5 ccm Serum + 1,0 ccm Toxin V intravenös sofort K. 98 lebt

0,1 " " + 1,0 " " V " " 475 † in 30'

1,0 " " + 1,0 " " V " getrennt " 459 † in 60'

## 3. Aderlaß am 5. Dezember.

0,05 ccm Serum + 0,5 ccm Toxin V gemischt sofort K. 450 lebt

1,0 " " + 0,5 " " V getrennt " " 412 "

0,5 " " + 0,5 " " V " " 480 †

Aus den Versuchen geht aber noch weiter hervor, daß ein Antitoxin, gewonnen mit dem Toxin des Vibrio Nasik, wohl auch im stande ist, das Toxin der El Torvibrionen ebenso zu neutralisieren wie das zugehörige Antitoxin.

Ueerblicken wir nun die Ergebnisse unserer Untersuchungen, so haben wir Tatsachen zu konstatieren, die mit unseren bisherigen Kenntnissen nicht übereinstimmen.

Die 6 Stämme von El Torvibrionen sind nicht nur bezüglich ihres morphologisch-kulturellen Verhaltens als identisch mit dem Cholera vibrio Koch zu bezeichnen, sie sind auch bezüglich der Agglutination und des Pfeifferschen Versuches mit demselben zu identifizieren; dasselbe hochwertige Choleraserum, welches die Cholera vibrien agglutiniert, ist auch bei derselben Verdünnung auf jene wirksam; das Immunserum der El Torvibrionen agglutiniert umgekehrt die Cholera vibrien auch bei derselben Konzentration und schützt das Meerschweinchen gegen gleichzeitige peritoneale Infektion mit Cholera vibrien. Die El Tor-Stämme stehen aber durch die Produktion von Toxinen in einem wesentlichen Gegensatz zum Cholera vibrio, von dem wir die Bildung löslicher, filtrierbarer Toxine und Hämotoxine in vitro nicht kennen. Der typische Cholera vibrio produziert nach unserer Erfahrung und nach der Angabe aller Autoren keine Hämotoxine und die Produktion eines anderen Toxins (Metschnikoff etc.) wurde später bei sicher bestimmten Cholera-

stämmen nicht bestätigt. Wären diese Tatsachen allein bekannt, so lässig, nachkönnte man sich mit der Annahme hinüberhelfen, daß es toxische und atoxische Choleravibrionen gibt, deren Zusammengehörigkeit durch das einheitliche Agglutinin erwiesen ist. Diese Annahme ist aber nicht zudem sich uns erwiesen hat, daß das Hämotoxin der El Torvibrionen identisch ist mit dem vieler anderer Vibrionen (Nasik, Metschnikoff, Danubicus, Finkler-Prior, Massauah etc.), welche sowohl biologisch als auch zum großen Teil auch kulturell und morphologisch verschieden sind. Ja auch das akut wirkende Toxin der El Torvibrionen wird vom Antitoxin des *Vibrio Nasik*, der sonst in seinem biologischen Verhalten total verschieden ist, ausgeglichen.

Eine Analogie zu diesem Verhalten böte das Robin, das Ehrlich durch seine Neutralisierbarkeit durch das Antiricin als dem Ricin zugehörig erwiesen hat; weitere Analogieen böten die verschiedenen Giftpflanzen, welche dieselben Alkaloide enthalten, oder die verschiedenen Species von Cinchona mit den zahlreichen Chinaalkaloiden. Es bedeutet einen wichtigen Zuwachs unserer Kenntnisse, wenn wir neben den spezifischen Bakterientoxinen nun auch die Tatsache kennen lernen, daß einer Gruppe von Bakterien, die sich sonst differenzieren lassen, identische Toxine und Antitoxine zukommen. Ob die Choleravibrionen nun von dieser der Vibrionengruppe so ausgedehnt zukommenden Eigenschaft als ganz ausgeschlossen zu betrachten sind, müssen weitere Untersuchungen zeigen. Einstweilen sind dieselben dadurch, daß ihre filtrierten Kulturen kein Hämotoxin und Toxin enthalten, scharf getrennt von den übrigen Vibrionen, zu denen auch die El Torvibrionen gehören.

Nach den übrigen biologischen Reaktionen gehören aber letztere dem Choleravibrio an und daraus ergäbe sich die weitere wichtige Tatsache, daß das Agglutinin des Choleravibrio nicht in der bisher angenommenen Weise artspezifisch wäre. Für die Praxis ergäbe sich daraus die Forderung, daß, wenn die Agglutinationsprobe, welche auch nach diesen Untersuchungen das wichtigste Differentialdiagnostikum bleibt, positiv ausfällt, noch die Hämolyseprobe anzuschließen wäre.

Nicht unwichtig erscheint es uns, daß diese Stämme aus Fällen gezüchtet wurden, die nicht das klinische Bild der Cholera darboten, sondern an Colitis, Dysenterie gestorben sind. Sollte man nicht daran denken, diese Stämme in Beziehung zu diesem Krankheitsbilde zu bringen? Kommt nicht vielleicht auch den 32 anderen El Torvibrionen eine pathogene Bedeutung zu? Aus Versuchen, die noch nicht abgeschlossen sind, ergibt sich die Tatsache, daß die meisten der in El Tor von F. Gottschlich gezüchteten 32 anderen Vibrionen ebenfalls Hämotoxine und akute Toxine produzieren. Doch sind diese Stämme durch Agglutination von Choleravibrio und den 6 El Torstämmen abzutrennen. Das Antihämotoxin der 6 Torstämmen neutralisiert aber das Hämotoxin der meisten El Torvibrionen, sowie auch das Antitoxin die Toxine dieser Stämme zu neutralisieren vermag. Diese Stämme sind ebenfalls aus Fällen, bei welchen Colitis, Dysenterie konstatiert wurde, gezüchtet, so wie die 6 El Torstämmen. Sollte man diese Vibrionen bloß als harmlose Wasservibrionen ansehen und sie nicht in pathogenetische Beziehung zu dem Krankheitsbilde bringen?

Aus den vorangehenden Untersuchungen läßt sich derzeit bereits folgende Einteilung der Vibrionen ableiten:

Gleiche biolog. Reaktionen. Agglut. Pfeiffersch. Vers.	Hämotoxin produzieren	Hämotoxin produzieren nicht	Akut wirken- des Toxin produzieren	Akut wirken- des Toxin produzieren nicht	Identische Antihämo- toxine, Anti- toxine
Choleravibrio Koch 6 El Torvibrionen Cholera Berlin	6 El Torvibrionen Zahlreich. andere Vibrionen. V. Nasik, „ Massauah, „ Metschnikoff, „ Danubicus, „ Finkler-Prior, „ Deneke, „ Elvers. El Torvibrionen (welch. morphol. kultur. u. biolog. different sind vom Vib. Koch).	Choleravibrio Einzelne Vi- brionen (Mei- nicke, Pri- bram).	6 El Tor- vibrionen V. Nasik, „ Elvers, „ Massauah, V. 35 (Kolle- Gottschlich), V. 361 (Ham- burg). Einzelne El Torvibrion. Chol. Krakau Chol. Berlin	Choleravibrio V. Metschni- koff, Danu- bicus, Fink- ler-Prior. V. Deneke	Alle Vibrion., die Hämoto- xin, Toxin produzieren.

#### Nachtrag bei der Korrektur:

In den letzten Tagen erschien aus dem hygienischen Institut in Halle von Liefmann und Nieter (Med. Klinik. No. 10) eine Arbeit, welche sich mit der Nachprüfung der von uns vorläufig mitgeteilten Tatsachen beschäftigt. Die Autoren finden, daß die 6 El Torstämme hämotoxische Eigenschaften besitzen. Dagegen gelang es nicht, das von uns beschriebene akut wirkende Toxin nachzuweisen. Derartige widersprechende Resultate können nur durch die Ungleichheit der Technik erklärt werden. Zur Vermeidung solcher Widersprüche sei ganz kurz die Methodik angegeben, deren wir uns bedienen.

Die 2—3 Tage alten Bouillonkulturen (Alkeleszenz der Bouillon 2—4 ccm einer 5-proz. NaHO auf 1 l neutr. Bouillon) werden zunächst unfiltriert auf ihre Giftigkeit geprüft. Wenn das Gift bei intravenöser Injektion in Mengen von 0,2—0,5 ccm Kaninchen (800—1000 g) innerhalb 1 Stunde tötet, wird die Kultur durch Reichel- oder Chamberland-Kerzen filtriert. Nach unseren Erfahrungen erfährt das Gift bei der Filtration eine Abschwächung, was ja auch für andere Toxine Geltung hat. Die Vorprüfung der unfiltrierten Kultur ist deshalb notwendig, weil die Gifte nicht immer in gleichalteriger Kultur gleich stark sind. Bei systematisch daraufhin gerichteten Untersuchungen ließ sich nachweisen, daß Kolben, die gleichzeitig mit demselben Stamm geimpft waren, zur selben Zeit verschiedene Giftigkeit aufweisen. Es kommt auch vor, daß erst 4—6-tägige Kulturen das wirksamste Gift enthalten. Wir kennen ja Ähnliches auch bei der Darstellung anderer Gifte. Würde man nun die von uns geübte Vorprüfung der Kultur unterlassen und filtriert sofort die Kultur, so kann man ungiftige oder wenig giftige Filtrate erhalten. Nur auf diese Weise lassen sich die negativen Resultate von Liefmann und Nieter erklären.

#### Literatur.

- 1) Prausnitz, Zeitschr. f. Hyg. 1903.
- 2) Kolle u. Gottschlich, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLIV.
- 3) Gottschlich, F., Conseil sanit., marit. et quarant. d'Egypte Campement de Tor. Alexandrie 1905.
- 4) Prochnik, Wiener klin. Wochenschr. 1905, No. 39.

- 5) Kolle u. Meinicke, *Bullet. quarant. hebdom. publié par le conseil sanit. marit., et quarant. d'Egypte*. 1905. No. 276. *Klin. Jahrb.* 1905.
- 6) Kraus u. Příbram, *Wiener klin. Wochenschr.* 1905. No. 39.
- 7) Kraus, *Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXIV.* 1903.
- 8) Příbram, *Supplementheft des Handb. Kolle und Wassermann.*
- 9) Meinicke, *Zeitschr. f. Hyg. Bd. I.*
- 10) Kraus u. Prantschhoff, *Wien. klin. Wochenschr.* 1906. No. 11.
- 11) Metschnikoff, Roux u. Salimbeni, *Annales de l'Inst. Past.* 1896.
- 12) Ransom, *Deutsche med. Wochenschr.* 1895.
- 13) Rothberger, *Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXVIII.* 1905.
- 14) Zupnik, *Prag. med. Wochenschr.* 1902. No. 33.
- 15) Kraus u. Doerr, *Wiener klin. Wochenschr.* 1905. No. 7. 42.

*Nachdruck verboten.*

## Nahrungsmittelvergiftung und Paratyphus.

[Aus der bakteriologischen Untersuchungsanstalt Straßburg und aus dem hygienischen Institute der Universität Straßburg.]

Von

Prof. E. Levy und Oberarzt Dr. W. Fornet, kommandiert zur Anstalt.

Bei den Nahrungsmittelvergiftungen bakteriellen Ursprungs lassen sich klinisch zwei ganz verschiedene Symptomenkomplexe unterscheiden. Die eine Form zeichnet sich durch nervöse Symptome zentralen Ursprungs, durch sekretorische und motorische Störungen aus. Sie wird hervorgerufen durch den von van Ermengem<sup>1)</sup> entdeckten, anaëroben *Bacillus botulinus*, dessen Toxin die Veränderungen im Zentralnervensystem nach sich zieht. Die zweite Form zeigt, allgemein ausgedrückt, Krankheitserscheinungen, die den Magendarmkanal betreffen. Hier haben wir jedoch keine einheitliche Aetiologie mehr, sondern es sind bei den verschiedenen Epidemien eine große Anzahl von Erregern gezüchtet worden. Am seltensten traf man den *Proteus*. Der eine von uns<sup>2)</sup> machte eine derartige Beobachtung. Der Befund von Mikroorganismen aus der *Proteus*-Gruppe wurde dann später von verschiedenen Seiten bestätigt. Bei der *Proteus*-Infektion hat man wohl in den meisten Fällen eine nachträgliche Verunreinigung der Nahrungsmittel mit den Bakterien dieser weit verbreiteten Gruppe anzunehmen. Wenn die betreffenden Nahrungsmittel für das Wachstum der hineingelangten Mikroorganismen geeignet sind, so vermehren sich dieselben in ihnen und bilden ihre Stoffwechselprodukte. Da *Proteus* auch noch bei niedriger Temperatur (4—6°) fortkommt, so bietet selbst der Eisschrank keinen sicher ausreichenden Schutz. Unter den Stoffwechselprodukten des *Proteus* haben wir eins anzunehmen, welches nach Art des Schmiedeburgerschen Sepsins wirkt [Levy<sup>3)</sup>]. Deshalb sieht man auch bei den *Proteus*-Magendarmkatarrhen nicht selten starke, mit bloßem Auge bereits erkennbare Beimengungen von Blut zum Stuhl.

Fleischvergiftungen, bei denen das *Bacterium coli* anzuschuldigen ist, wurden veröffentlicht von Dineur<sup>4)</sup> und B. Fischer<sup>5)</sup>.

1) van Ermengem, *Handb. d. pathog. Mikroorg. v. Kolle u. Wassermann.* Bd. II.

2) u. 3) Levy, E., *Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol.* Bd. XIV.

4) Dineur, *Travail du laboratoire de bactériologie de l'hôpital militaire d'Anvers.* [Referat.] (*Centralbl. f. Bakt. etc.* Bd. XXIV.)

5) Fischer, B., *Zeitschr. f. Hyg.* Bd. XXXIX.

Bei der Mehrzahl der Erkrankungen mit gastro-intestinaler Form ließen sich jedoch Bacillen züchten, die morphologisch und kulturell zu den Typhuserregern in verwandtschaftlicher Beziehung stehen. Die systematische Prüfung der gefundenen Mikroorganismen insbesondere vermittelt der Serodiagnostik [Durham<sup>1)</sup>, de Nobele<sup>2)</sup>] hat in dieser wichtigen Frage eine gewisse Klärung geschaffen, sie hat es erlaubt, einige wohl voneinander geschiedene Gruppen aufzustellen. De Nobele hat sich zunächst dieser Aufgabe unterzogen, er unterscheidet 2 Hauptgruppen, von denen die eine (Typus I) den *Bacillus enteritidis* von Gärtner, die andere (Typus II) seinen *Bacillus Aertryck* als Vertreter aufweist. Er betonte weiter, daß der Schweinepestbacillus (der Erreger der Hogcholera) dem *Aertryck* sehr nahe steht und daß man deshalb auch jenen als Hauptrepräsentanten bezeichnen könnte. Trautmann<sup>3)</sup> kam dann zu der Schlußfolgerung, daß die *Paratyphusbacillen* Schottmüllers<sup>4)</sup> zu den genannten Mikroorganismen gleichfalls in ganz nahe verwandtschaftliche Beziehungen zu bringen sind, und zwar neigt der *Paratyphusbacillus* vom Brion-Kayserschen<sup>5)</sup> Typus A mehr zu der Gärtnerschen Gruppe, während der *Paratyphus* B der Breslau-Posen-Düsseldorf-Aertryck- (Hogcholera-) Gruppe außerordentlich nahe steht. Letzterer Punkt wurde von allen Nachuntersuchern bestätigt. Der *Paratyphus* A scheint jedoch vorläufig wenigstens eine Sonderstellung einzunehmen. Kulturell neigt er, wie dies auch Bonhoff<sup>6)</sup> betont, noch am meisten zum *Typhusbacillus* hin. Er läßt im Gegensatz zu fast allen anderen Vertretern und in Uebereinstimmung mit den Typhusstäbchen die Lackmusmolke dauernd rot und klar, bei ihm tritt auch nicht die bei beiden Gruppen zu beobachtende Aufhellung und leichte Gelbfärbung der Milch ein.

Bonhoff<sup>7)</sup> und v. Drigalski<sup>8)</sup> ziehen den *Bac. enteritidis* Gärtner mit in die Hogcholeragruppe hinein. Die verschiedene Klassifizierung dieses Mikrobions hängt möglicherweise damit zusammen, daß unter dem Namen *Bac. enteritidis* Gärtner verschiedene Stämme beschrieben worden sind. Diese Ansicht wird auch von Henry Smidt<sup>9)</sup> und Joest<sup>10)</sup> geteilt. Bonhoff gliedert weiter den *Mäusetyphusbacillus* in die Hogcholeragruppe ein, ebenso Henry Smidt, der unter M. Neisser arbeitete, die Erreger des *Paratyphus* B und des *Mäusetyphus*. Durham<sup>11)</sup> hat übrigens schon früher (1899) die Verwandtschaft der Fleischvergiftungsbacillen mit dem *Mäusetyphus* und weiter mit den *Psittacosestäbchen* betont. Die Zugehörigkeit des letzteren Mikrobions hat A. Böhme<sup>12)</sup>, gleichfalls bei M. Neisser, studiert; er kommt zu der Schlußfolgerung, daß auch der Nocardische *Bacillus* der *Psittacose*

1) Durham, Brit. med. Journ. 1898. — Transact. of the pathol. soc. of London. 1899.

2) de Nobele, Ann. de la soc. de Gand. 1899 u. 1901.

3) Trautmann, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLV.

4) Schottmüller, Deutsche med. Wochenschr. 1900. — Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXXVI.

5) Brion u. Kayser, Münch. med. Wochenschr. 1902.

6) Bonhoff, Arch. f. Hyg. Bd. L.

7) Bonhoff, l. c.

8) v. Drigalski, Festschr. f. R. Koch. 1903.

9) Smidt, Henry, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII.

10) Joest, Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. 1905. Heft 10.)

11) Durham, l. c.

12) Böhme, A., Zeitschr. f. Hyg. Bd. LII.

in die Hogcholeragruppe einzureihen ist. Zu ungefähr gleichen Ergebnissen gelangt auch Trommsdorf<sup>1)</sup> in seiner ausführlichen Arbeit.

Die Stellung des Erregers der Septikämie der Kälber [Thomassen<sup>2)</sup>], des *B. morbillans bovis* [Forster-Basenau<sup>3)</sup>] und des Erregers einer gewissen Form von infektiöser Kälberenteritis [Malvoz<sup>4)</sup>] zu den genannten beiden Hauptgruppen ist noch nicht geklärt. Nach unseren weiter unten angeführten Agglutinationsversuchen ist der *Morbificans* wohl eher der Gruppe II hinzuzurechnen; die beiden anderen Stämme standen uns nicht zur Verfügung. Jedenfalls muß man mit van Ermengem<sup>5)</sup> annehmen, daß Fleisch, welches mit einem dieser 3 Bacillen durchsetzt ist, beim Menschen das Bild einer Fleischvergiftung hervorrufen kann.

Nachdem es einem<sup>6)</sup> von uns gelungen ist, beim Rinde aus einem Milzabsceß den Eberth-Gaffkyschen Bacillus zu züchten, erscheint es nicht mehr zweifelhaft, daß schließlich auch der *B. typhi* eine sogenannte Fleischvergiftung zu verursachen in der Lage ist. Dasselbe gilt auch für den Paratyphusbacillus B, der von B. Fischer<sup>7)</sup> aus den Kadaverteilen zweier an Enteritis eingegangener Kühe isoliert wurde.

Die nahen Beziehungen zwischen einzelnen Fleischvergiftungen oder, wie wir uns allgemeiner ausdrücken wollen, Nahrungsmittelvergiftungen zum Typhus sind schon verhältnismäßig früh der Gegenstand lebhaftester Erörterungen gewesen. Besonders die Epidemien von Andelfingen (1839), Klotten (1878), Birmensdorf (1879), Würenlos (1880) haben hierzu Veranlassung gegeben<sup>8)</sup>. Seitdem wir dank den bakteriologischen Fortschritten wissen, daß der Paratyphusbacillus B, welcher ja klinisch dieselben Krankheitsbilder bisweilen nach sich ziehen kann wie der Typhusbacillus, den Fleischvergiftungsbakterien zum Verwechseln ähnlich sich verhält, macht die Erklärung dieser Epidemien, die unter dem Bilde des Abdominaltyphus verlaufen sind, gar keine Schwierigkeiten mehr. In dieser Hinsicht bleibt auch heute noch die Ansicht von Bollinger<sup>9)</sup> wichtig, der sich in dieser Frage mehr vermittelnd für eine besondere Art von Infektion ausspricht, „die eine große Aehnlichkeit, ja eine gewisse Verwandtschaft mit dem menschlichen Abdominaltyphus hat und vielleicht als eine Abart desselben betrachtet werden kann“. Der Paratyphus spielt sicherlich bei den sogenannten Nahrungsmittelvergiftungen eine große Rolle. Die oben erwähnten Funde des einen von uns von Typhusbacillen, von B. Fischer von Paratyphusbacillen B beim Rinde lassen jedoch unbedingt die Möglichkeit offen, daß auch vielleicht richtiger Abdominaltyphus bezw. Paratyphus auf diese Weise zu entstehen vermag. Ein Punkt ist aber noch völlig unaufgeklärt, warum erkranken nach Infektion mit den erwähnten Bacillen ein Teil der Individuen an Gastroenteritis, ein Teil an richtigem klinischen Abdominaltyphus?

1) Trommsdorf, Arch. f. Hyg. Bd. LV.

2) Thomassen, zit. nach van Ermengem im Handb. d. pathog. Mikroorg. v. Kolle u. Wassermann. Bd. II.

3) Basenau, Arch. f. Hyg. Bd. XXXII.

4) Malvoz, zit. nach van Ermengem im Handb. d. pathog. Mikroorg. v. Kolle u. Wassermann. Bd. II.

5) van Ermengem, Handb. d. pathog. Mikroorg. v. Kolle u. Wassermann. Bd. II.

6) Levy, E. u. Jacobsthal, Arch. f. Hyg. Bd. XLIV.

7) Fischer, B., Festschr. f. R. Koch. 1903.

8) Vergl. die ausgedehnte Literatur bei Levy, E. u. Jacobsthal, l. c.

9) Bollinger, Zur Aetiologie der Infektionskrankheiten. 1881. — Münch. med. Wochenschr. 1881.

Diese Uebergänge zwischen Gastroenteritis und Typhus wurden auch wieder bei einer Hausepidemie von Paratyphus beobachtet, die wir bakteriologisch zu untersuchen Gelegenheit hatten. Wir entnehmen die nachfolgenden Krankennotizen den Berichten, welche Herr Prof. v. Krehl<sup>1)</sup> und Herr Prof. A. Cahn<sup>2)</sup> über diese Fälle im Unterelsässischen Aerzterverein gegeben haben. Sämtliche Mitglieder einer Familie, die sich aus dem 48-jährigen Hausherrn, seiner 40-jährigen Frau, seinen 11–13-jährigen 3 Kindern und 2 Dienstmädchen zusammensetzte, erkrankten in der Nacht vom 11./12. Nov. 1905 unter Erbrechen und heftigem Durchfall. Bei allen wurde gleich Fieber konstatiert, das bei dem am schwersten befallenen 12-jährigen Jungen am Nachmittag des 12. Nov. 40,8° erreichte. Die ersten Stuhlentleerungen waren beinahe geruchlos, sie bestanden aus einer hellen Flüssigkeit und zeigten teils farblose, teils gallig gefärbte Schleimfetzen. Mikroskopisch waren einzelne rote Blutkörperchen zu konstatieren. Die Pulsfrequenz war bei sämtlichen Erkrankten auffallend hoch, beim 12-jährigen Jungen 160. Bei allen Patienten, mit Ausnahme des einen Dienstmädchens (Köchin), ging die Temperatur innerhalb 3 Tagen zur Norm zurück. Die Köchin wurde in die medizinische Klinik des Herrn Prof. v. Krehl verbracht. Die übrigen Patienten standen in Behandlung des Herrn Prof. A. Cahn und des Hausarztes Herrn Dr. Klingenhage. Bei der Mutter, der Tochter, dem einen Jungen und der Köchin ließ sich am 12. Nov. abends ein Milztumor konstatieren. Die Hausfrau bekam eine typische Roseola. Bei 3 Patienten trat Eiweiß im Urin auf. Der Verlauf der Erkrankung bei der in die Klinik verbrachten Köchin war derjenige eines gewöhnlichen mittelschweren Typhus mit lytischem Abfall des Fiebers. Letzteres dauerte 18 Tage an, höchste Temperatur 39,3°. Bemerkenswert erscheint noch, daß während der ersten 3 Tage bei der Köchin sich ziemlich schmerzhaft Wadenkrämpfe einstellten. Die sofort angestellten bakteriologischen Untersuchungen der Stühle ergaben bei allen Patienten die Anwesenheit vom Paratyphusbacillus B. Am geeignetsten erwies sich auch hier wiederum zum Nachweis dieses Bacillus das von Loeffler<sup>3)</sup> und später von Lentz und Tietz<sup>4)</sup> angegebene, im hiesigen Institute von Klinger<sup>5)</sup> modifizierte Anreicherungsverfahren mittels Malachitgrünagar. Es braucht wohl kaum besonders betont zu werden, daß wir die gezielten Bacillen nach allen Richtungen hin identifizierten. Bei der klinischen Patientin wurde 2mal versucht, die Bacillen aus dem Blute zu züchten, und zwar nach einem von Conradi<sup>6)</sup> angegebenen und von Kayser<sup>7)</sup> modifizierten Anreicherungsverfahren mittels gekochter Galle. In unserem Falle glückte der Nachweis der Bacillen im Blute nicht. Bei den übrigen 6 Patienten wurde die nachträgliche Züchtung aus dem Blutkuchen des zur Agglutination eingesandten Blutes je 1mal versucht, jedoch auch hier ohne Erfolg. Ueber die angewandte Methode wird an anderer Stelle ausführlich berichtet werden.

Die Agglutinationsproben fielen bei sämtlichen Patientenseris positiv für Paratyphus B aus. Der Titer betrug bei den einzelnen Kranken

1) v. Krehl, Straßb. med. Ztg. 1905.

2) Cahn, A., Straßb. med. Ztg. 1906.

3) Loeffler, Dtsche med. Wchnschr. 1903. No. 36. Vereinsbeilage.

4) Lentz u. Tietz, Münch. med. Wochenschr. 1903. No. 49.

5) Klinger, [Inaug.-Diss.] Straßburg 1904.

6) Conradi, Mitgeteilt in einer Konferenz der Leiter der Typhusbekämpfungsanstalten. Saarbrücken 1904.

7) Kayser cf. Brion u. Kayser, Dtschs Arch. f. klin. Med. Bd. LXXXV.

1:200 bis 1:10000 (makroskopisch). Für die Details geben die Tabellen I—VIII genügenden Aufschluß. Nach den heutigen Anschauungen war also der Paratyphusbacillus B unbedingt als der Erreger der Haus-epidemie anzusehen. Aus der gleichzeitigen Erkrankung des ganzen Haushaltes mußte auf eine gleichzeitige Infektion, auf eine gemeinschaftliche Infektionsquelle geschlossen werden. Da wir durch eingehende Nachforschungen feststellten, daß die Epidemie auf die eine Familie beschränkt war, so mußte weiter die Infektion innerhalb des Haushaltes sich vollzogen haben. Es lag selbstverständlich am nächsten, an eine Nahrungsmittelinfektion zu denken. Wie die eingehenden Erhebungen ergaben, kamen als Nahrungsmittel, die von allen Patienten genossen waren, nur Leberwurst und eine Vanille-Griesspeise in Betracht. Die ziemlich beträchtlichen Ueberreste der Wurst und auch das beim Abendessen übriggebliebene Brot wurden nach den verschiedensten bekannten und außerdem nach dem sonst im hiesigen Institute üblichen Anreicherungsverfahren untersucht. Es glückte jedoch nicht, Paratyphus- oder verwandte Bakterien nachzuweisen. Die Untersuchung auf Anaerobier verlief gleichfalls negativ. Wir verschafften uns auch Proben derselben Wurst, von welcher der betreffende Metzger über 70 kg gleichzeitig angefertigt haben wollte. Die Untersuchung ergab wiederum keine zu der in Betracht kommenden Gruppe gehörigen Mikroben. Von der Griesspeise war nichts mehr erhältlich. Wir mußten uns deshalb auf die Prüfung einer Vanillenschote, die sich mit der zur Bereitung der Griesspeise verwandten in einem Glase befunden hatte, und auf Heranziehung von Gries, der vom Lieferanten der Familie bezogen wurde, beschränken. Unsere Bemühungen verliefen ergebnislos. Wir verfütterten von allen in Betracht kommenden Speisen und Ingrezienzen auf Mäuse, wir stellten uns wässrige Extrakte her und injizierten dieselben subkutan Mäusen. Kein einziges der Tiere zeigte irgend welche nennenswerte Krankheitserscheinungen. Wir verarbeiteten auch die Vanille, weil die klinischen Erscheinungen doch nicht mit aller Sicherheit eine sogenannte Vanillevergiftung ausschließen lassen. Denn wenn auch für die unter dem Bilde einer Dermatitis verlaufende Form derselben eine Verunreinigung mit Cardol von einem von uns<sup>1)</sup> nachgewiesen ist, so ist doch die Aetiologie der als Gastroenteritis in die Erscheinung tretenden Art von Vanillevergiftung trotz der vielfachen Untersuchungen noch nicht aufgeklärt. Vielleicht bringen auch hier die bei Vanillevergiftungen bislang noch nicht angewandten neueren Methoden zur Isolierung von Typhus- bzw. Paratyphusbacillen den gewünschten Aufschluß.

Die von Vagedes<sup>2)</sup> beschriebene Paratyphusepidemie ließ sich mit der größten Wahrscheinlichkeit auf den Genuß einer Mehlspeise zurückführen. Bei der Bereitung derselben war genau wie bei uns auch Gries und Vanille verwandt worden. Leider konnte auch Vagedes die angeschuldigte Speise nicht untersuchen, da sie ganz aufgegessen war. Die von Vagedes erörterte Möglichkeit einer Verunreinigung der benutzten Enteneier kommt bei uns nicht in Betracht, da hier Hühnereier gebraucht wurden.

Für die hiesige Epidemie war dann weiter noch daran zu denken, daß ein Bacillenträger die betreffenden Speisen verunreinigt haben konnte.

1) Fornet, Arch. f. Dermatol. u. Syph. Bd. LX. Heft 2.

2) Vagedes, Klin. Jahrb. 1905.



Tabelle I.  
Patientenserum B. R.

Verdünnung	1:50	1:100	1:200	1:400	1:500	1:800	1:1000	1:2000	1:4000	1:5000	1:8000	1:10 000	1:20 000
B. paratyphi B (Laboratoriumsstamm)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
B. paratyphi B (Stamm Patient B. R.)	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
B. Aertryck	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
B. Gaustadt	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
B. Breslaviensis	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
B. Günther	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. suipestifer	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. typhi murium	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
B. psittacosis	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—
B. morbificans bovis	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. Abel	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. Gärtner	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. Friedebergiensis	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. Morseelensis	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. Shiga-Kruse	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. typhi	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. paratyphi A	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
Bact. coli commune	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle II<sup>1)</sup>.  
Patientenserum H. P.

Verdünnung	1:50	1:100	1:200	1:400	1:500	1:800	1:1000
B. paratyphi B	+	+	+	—	—	—	—
B. Günther	+	+	+	—	—	—	—
B. typhi murium	+	+	—	—	—	—	—
B. morbificans bovis	—	—	—	—	—	—	—
B. Morseelensis	—	—	—	—	—	—	—
B. typhi	—	—	—	—	—	—	—
B. paratyphi A	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle III.  
Patientenserum M. P.

B. paratyphi B	+	+	+	—	—	—	—
B. Günther	+	+	—	—	—	—	—
B. typhi murium	+	+	+	—	—	—	—
B. morbificans bovis	+	—	—	—	—	—	—
B. Morseelensis	—	—	—	—	—	—	—
B. typhi	—	—	—	—	—	—	—
B. paratyphi A	+	+	—	—	—	—	—

Tabelle IV.  
Patientenserum E. P.

B. paratyphi B	+	+	+	+	+	—	—
B. Günther	+	+	+	—	—	—	—
B. typhi murium	+	+	+	—	—	—	—
B. morbificans bovis	+	—	—	—	—	—	—
B. Morseelensis	—	—	—	—	—	—	—
B. typhi	—	—	—	—	—	—	—
B. paratyphi A	—	—	—	—	—	—	—

1) Bei den Tabellen II—VII ist zu bemerken, daß auch bei diesen Seris der Einfluß auf die vorhandenen Stämme von Abel, Gärtner und Friedeberg ausgedehnt worden ist. Die Stämme Aertryck und Psittacose trafen aus dem Institut Král-Prag erst zu einer Zeit ein, wo die betreffenden Patientensera nicht mehr zur Verfügung standen.

Tabelle V.  
Patientenserum O. P.

Verdünnung	1:50	1:100	1:200	1:400	1:500	1:800	1:1000	1:2000	1:4000	1:5000	1:8000	1:10 000	1:20 000
B. paratyphi B	+	+	+	+	+	—							
B. paratyphi B (Stamm des Patienten O. P.)	+	+	+	+	—								
B. Günther	+	+	+	—									
B. typhi murium	+	+	+	—									
B. morbificans bovis	+	+	+	—									
B. Morseelensis	—												
B. typhi	+	+	—										
B. paratyphi A	+	+	—										

Tabelle VI.  
Patientenserum F. P.

B. paratyphi B	+	+	+	+	+	—							
B. paratyphi B (Stamm des Patienten F. P.)	+	+	+	—									
B. Günther	+	+	+	+	+	—							
B. typhi murium	+	+	+	+	—								
B. morbificans bovis	+	+	—										
B. Morseelensis	—												
B. typhi	—												
B. paratyphi A	—												

Tabelle VII.  
Patientenserum E. S.

B. paratyphi B	+	+	+	—									
B. Günther	+	+	+	—									
B. typhi murium	+	+	—										
B. morbificans bovis	+	+	—										
B. Morseelensis	—												
B. typhi	—												
B. paratyphi A	+	+	—										

Tabelle VIII.  
Kaninchenimmunserum  
(Paratyphus B, Stamm B. R.)

B. paratyphi B	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—
B. paratyphi B (Stamm Patient B. R.)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
B. Aertryck	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. Gaustadt	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. Breslaviensis	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. Günther	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. suiptifer	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. typhi murium	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
B. peitacois	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—
B. morbificans bovis	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. Morseelensis	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. Abel	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. Gärtner	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. Friedebergensis	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. Shiga-Kruse	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B. typhi	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
B. paratyphi A	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Bact. coli commune	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle IX.  
Meerschweinchen erhielten intraperitoneal

No.	Gewicht	48-stündige Bouillonkultur von B. paratyphi B (Stamm B. R.)	Steriles Filtrat dieser 48-stündigen Bouillonkultur (Stamm B. R.)	Sterile Bouillon	Erfolg
1	ca. 300 g	—	6 ccm		lebt
2	" 300 "	—	4 "		"
3	" 300 "	0,00001	—	2 ccm	nach 24 Stdn. +
4	" 300 "	0,00001	—	2 "	" 24 " +
5	" 300 "	0,000001	—	2 "	lebt
6	" 300 "	0,000001	—	2 "	"
7	" 300 "	0,000005	—	2,5 "	"
8	" 300 "	0,000005	—	2,5 "	"
9	" 300 "	0,000005	2,5 ccm	—	nach 36 Stdn. +
10	" 300 "	0,000005	2,5 "	—	" 36 " +
11	" 300 "	0,000005	2,5 "	—	" 36 " +
12	" 300 "	0,000005	2,5 "	—	" 36 " +
13	" 300 "	0,000005	—	2,5 ccm	lebt
14	" 300 "	0,000005	—	2,5 "	"

Tabelle X.  
Mäuse typhusserum (Kaninchen).

Verdünnung	1:50	1:5000	1:25 000	1:50 000	1:100 000
B. typhi murium	+	+	+	+	—
B. paratyphi B (Laboratoriumstamm)	+	+	—	—	—
B. paratyphi B (Stamm B. R.)	+	+	+	+	—
B. paratyphi A	+	—	—	—	—
B. typhi	—	—	—	—	—
B. coli	—	—	—	—	—

Tabelle XI.  
Castellanischer Versuch.  
(Paratyphus B (Stamm B. R.) — Serum (Kaninchen).

		B. paratyphi B (Laboratoriumstamm)	B. paratyphi B (Stamm B. R.)	B. typhi murium	B. psittacosis	B. Günther
abgesättigt mit	B. paratyphi B (Laboratoriumstamm)	1:50 — 1:100 — 1:1000 —	1:50 — 1:100 — 1:1000 —	1:50 — 1:100 — 1:1000 —	1:50 — 1:100 — 1:1000 —	1:50 — 1:100 — 1:1000 —
do.	B. paratyphi B (Stamm B. R.)	1:50 — 1:100 — 1:1000 —	1:50 — 1:100 — 1:1000 —	1:50 — 1:100 — 1:1000 —	1:50 — 1:100 — 1:1000 —	1:50 — 1:100 — 1:1000 —
do.	B. typhi murium	1:50 + 1:100 + 1:1000 —	1:50 + 1:100 + 1:1000 —	1:50 — 1:100 — 1:1000 —	1:50 + 1:100 + 1:1000 —	1:50 + 1:100 — 1:1000 —
do.	B. psittacosis	1:50 + 1:100 — 1:1000 —	1:50 + 1:100 + 1:1000 —	1:50 + 1:100 — 1:1000 —	1:50 — 1:100 — 1:1000 —	1:50 + 1:100 — 1:1000 —
do.	B. Günther	1:50 + 1:100 — 1:1000 —	1:50 + 1:100 + 1:1000 —	1:50 + 1:100 — 1:1000 —	1:50 + 1:100 + 1:1000 —	1:50 — 1:100 — 1:1000 —

In der Familie selbst war dieser nicht zu suchen, da alle Mitglieder erkrankten, wohl aber vielleicht bei den Lieferanten. Wir vermochten jedoch trotz zahlreicher Stuhl- und Urinuntersuchungen keinen Bacillenträger unter diesen zu entdecken.

Bevor es uns gelungen war, den aus den Faeces aller 7 Patienten gezüchteten *Bacillus* mit genügender Sicherheit durch die verschiedenen kulturellen Methoden und durch die ausgedehnten Agglutinationsversuche mit dem *B. paratyphi* B zu identifizieren, hielten wir es nicht für ausgeschlossen, daß es sich im vorliegenden Falle auch um einen anderen *Bacillus* der *Hogcholeragruppe*, etwa den *B. Günther* oder den *B. typhi murium*, handeln könnte. Wenn auch Loeffler<sup>1)</sup> auf Grund mehrfacher Beobachtungen am Menschen die Pathogenität des *B. typhi murium* für den Menschen in Abrede stellt, so haben doch die Erfahrungen von Trommsdorff<sup>2)</sup>, Bonhoff<sup>3)</sup> und Mayer<sup>4)</sup> bewiesen, „daß der Mäusetyphus beim Menschen eine akute, rasch vorübergehende, jedoch mit ziemlich schweren Symptomen verlaufende Krankheit zu erregen vermag“ (Mayer). Wenn nun auch in dem betroffenen Haushalte keine toten Mäuse gefunden werden konnten, so war es doch immerhin möglich, daß eines der in Frage kommenden Nahrungsmittel (z. B. der Gries) durch kranke Mäuse verunreinigt und infiziert worden war.

Kulturell ist der *B. paratyphi* B vom *B. typhi murium*, ebenso wie von anderen ihm nahestehenden und in Tabelle I mitaufgeführten Bacillen schwer zu unterscheiden, nur ist bei ihm im Gegensatz zum Mäusetyphusbacillus in der Lackmusmolke der Umschlag von der sauren in die alkalische Reaktion erst am 4. Tage deutlich sichtbar. In der allerletzten Zeit gibt Loeffler<sup>5)</sup> einen kombinierten Malachitgrünnährboden an (Grünlösung IV), der den Mäusetyphusbacillus vom Paratyphus B unterscheiden läßt. Da auch ein unter unserer Leitung im hiesigen Institute von Lotzer<sup>6)</sup> hergestelltes Mäusetyphusserum, wie aus der Tabelle XII ersichtlich, unseren Bacillus in ebenso hoher Verdünnung agglutinierte wie den homologen *B. typhi murium*, so erschien es um so mehr wünschenswert, die Artverschiedenheit unseres Bacillus von dem Mäusetyphusbacillus und die Artidentität unseres Bacillus mit *B. paratyphi* B noch auf andere Weise festzustellen.

Wir benutzten dazu den Castellanischen<sup>7)</sup> Versuch, indem wir das mit unserem Bacillus erhaltene (Kaninchen-) Immunserum einmal mit unserem Bacillus bezw. dem *B. paratyphi* B und das andere Mal mit dem *B. typhi murium* sättigten und dann den Agglutinationstiter der abgesättigten Sera auf diese 3 Bacillen prüften. Hierbei fand sich, daß die mit dem *B. paratyphi* B oder unserem Bacillus abgesättigten Sera weder diesen noch irgend einen anderen Bacillus agglutinierten, während das mit dem *B. typhi murium* abgesättigte Serum nur diesem gegenüber, nicht aber dem *B. paratyphi* B und unserem Bacillus gegenüber unwirksam geworden war.

Auch danach ist also der von uns isolierte Bacillus mit dem *B. paratyphi* B vollkommen identisch.

1) Loeffler, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XIII.

2) Trommsdorff, Münch. med. Wochenschr. 1903. No. 48.

3) Bonhoff, Arch. f. Hyg. Bd. L. 1904.

4) Mayer, Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 47.

5) Loeffler, Dtsche med. Wochenschr. 1906. No. 8.

6) Lotzer, [Inaug.-Diss. med. vet.] Bern 1906.

7) Castellani, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XL. 1902.

Der aus den Faeces der Patienten B. R. gezüchtete Paratyphus B-Stamm erwies sich als sehr virulent, indem schon  $\frac{1}{100}$  mg einer 48-stündigen Bouillonkultur intraperitoneal Meerschweinchen von ca. 300 g innerhalb 34 Stunden tötete (conf. Tab. IX).

Durch Verfütterung von frischen Agarkulturen sowie von solchen, die  $\frac{1}{2}$  Stunde lang bei 56° bzw. bei 100° abgetötet waren, gingen Mäuse ebenfalls ein.

Das Filtrat einer 48-stündigen Bouillonkultur war selbst in größeren Mengen (6 ccm) intraperitoneal für Meerschweinchen unschädlich.

Wie aus der angefügten Tabelle I hervorgeht, agglutinierte das Serum der am schwersten erkrankten Patientin B. R., die in die Klinik verbracht werden mußte, den B. paratyphi B noch in einer Verdünnung von 1:10000. Auffallend ist, daß der aus dem Stuhl der Patientin gezüchtete Stamm (B. paratyphi B, Stamm B. R.) nur in einer Verdünnung von 1:1000 agglutiniert wird. Es ist dies wohl durch die zuerst von Nicolle und Trenel<sup>1)</sup> hervorgehobene und später von P. Müller<sup>2)</sup> und Klinger<sup>3)</sup> bestätigte Tatsache zu erklären, daß frisch aus dem tierischen Körper gezüchtete Stämme im Anfang schwer agglutinabel sind. Wir konnten speziell bei unserem Stamm das Anwachsen der Agglutinabilität gut verfolgen, indem in den ersten Tagen der Bacillus nur in einer Verdünnung von 1:100 und später schrittweise mit der längeren Fortzüchtung auf Agar in immer stärkeren Verdünnungen ein und desselben Serums agglutiniert wurde. Die Agglutinationsprüfungen wurden nach der im hiesigen Institute gebräuchlichen Methode vorgenommen, indem immer 0,2 ccm Aufschwemmung einer höchstens 24-stündigen Agarkultur zu 0,8 ccm Serumverdünnung hinzugefügt und die Agglutination nach 2—3-stündigem Verweilen im Brutschrank (37°) makroskopisch beurteilt wird.

Aus den Agglutinationstabellen wird auch die zuerst von de Nobele<sup>4)</sup> aufgestellte Zusammengehörigkeit der Hogcholeragruppe (Th. Smith), einschließlich des Paratyphus B, mit der Gruppe Aertryck der Fleischvergiftungsbakterien bestätigt. Auffallend ist nur, daß das Serum B. R. (Tabelle I) auch den B. paratyphi A [Schottmüller<sup>5)</sup> und Brion und Kayser<sup>6)</sup>] noch in einer Verdünnung von 1:1000 mitagglutiniert, während das mit dem aus dem Stuhl der Patientin B. R. gezüchteten Stamm beim Kaninchen erzeugte Immenserum den B. paratyphi A nur in einer Verdünnung von 1:50, dagegen den Eberth'schen Bacillus noch bei 1:5000 agglutinierte (conf. Tab. VIII). Man muß aus diesen Tatsachen schließen, daß außer den homologen Agglutininen (in unserem Falle B. paratyphi B) auch heterologe Agglutinine gebildet werden, welche bei den verschiedenen Individuen resp. Tier-species verschieden sind, wie dies auch von Paltauf<sup>7)</sup> hervorgehoben wird. In unserem Falle wird dies noch ganz besonders schön dadurch illustriert, daß, wie die Tab. I—VII zeigen, das Serum von 7 Patienten, welche doch zweifellos zu gleicher Zeit mit ein und demselben Bacillus infiziert worden waren, einmal den B. typhi murium, ein anderes

1) Nicolle et Trenel, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1902.

2) Müller, P., Münch. med. Wochenschr. 1903.

3) Klinger, P., Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXII.

4) de Nobele, Ann. de la soc. méd. de Gand. 1899.

5) Schottmüller, Dtsche med. Wochenschr. 1900.

6) Brion u. Kayser, Münch. med. Wochenschr. 1902.

7) Paltauf, Kolle u. Wassermanns Handb. Bd. IV, 1.

Mal den *B. Günther* am höchsten mitagglutiniert. In 4 Fällen war sogar die heterologe Mitagglutination ebenso hoch wie die homologe Agglutination. Auch das durch Injektion von *B. paratyphi B* (Stamm *B. R.*) beim Kaninchen gewonnene Serum agglutinierte den *B. psittacosis* ebenso hoch wie den homologen Stamm. In gleicher Weise erzielte *A. Böhme*<sup>1)</sup> für einen heterologen Stamm (*Aertryck*) eine gleich hohe (1 : 8000) Mitagglutination wie für den homologen Stamm (*Psittakose*).

Wenn man demnach nicht die Artspezifität der Agglutination überhaupt in Frage stellen will, so muß man bei den verschiedenen Stämmen eine verschieden leichte oder schwere Agglutinabilität annehmen.

Jedenfalls ergibt sich hieraus die Forderung, daß man bei der Prüfung von Patientenserum zur Diagnose nur leicht agglutinable Stämme verwenden soll, d. h. bei den zur *Hogcholeragruppe* gehörigen Bacillen, ebenso wie bei den *B. typhi* und *B. paratyphi A* solche Stämme, welche schon längere Zeit auf künstlichen Nährböden fortgezüchtet worden sind.

Des weiteren muß man darnn festhalten, daß bei der Identifizierung frisch gezüchteter Stämme neben der Agglutination sämtliche morphologischen und biologischen sonstigen Eigenschaften unbedingt zu berücksichtigen sind.

Zum Schluß wollen wir noch versuchen, die Frage zu erörtern, wie es kommt, daß ein und derselbe Krankheitserreger zwei so verschiedene Krankheitsbilder, einmal die typhöse Form, das andere Mal die gastroenteritische Form, erzeugen kann.

Die so plötzlich einsetzenden gastrointestinalen Symptome lassen die Folgerung zu, daß die natürlichen Schutzkräfte des Magendarmkanals gegenüber dem eindringenden *Bacillus* sofort versagen. Da sind verschiedene Möglichkeiten zu erörtern. Die Bacillen können in solcher Massenhaftigkeit in dem betreffenden Nahrungsmittel vorhanden sein, daß der normale Widerstand der Schleimhaut gleich gebrochen wird. Das Nahrungsmittel wird von großen Mengen von Mikroorganismen überladen sein, wenn es von einem septisch erkrankten Tiere stammt oder aber wenn die Bacillen nachträglich auf es gelangen und sich in ihm während der Aufbewahrung vermehren. Die Menge der eingeführten Bakterien spielt bei allen Infektionen, selbst bei denen mit hochvirulentem Material, eine Rolle. Wenn auch bei stark virulenten Mikroorganismen einige wenige Exemplare genügen, um den Tod der Versuchstiere herbeizuführen, so drückt sich doch auch bei ihnen der Einfluß der Quantität darin aus, daß das Inkubationsstadium um so länger ausfällt, je weniger Mikroben zur Infektion verwandt wurden. Bei den mittelmäßig virulenten Bakterien gibt es, wie gleichfalls bekannt, eine Dose, die sogenannte minimale letale Dose, unter die nicht heruntergegangen werden darf, wenn man das Versuchstier zu Fall bringen will. Geht man über diese Dose hinaus, so hängt die Lebensdauer des Tieres wieder ganz von der Menge ab, mit der überschritten worden ist. Die Verkürzung der Inkubationsdauer, die ja bei den Nahrungsmittelvergiftungen gegenüber dem Typhus so ohne weiteres in die Augen springt, darf also sicherlich auf die Menge der eingenommenen Mikroorganismen zurückgeführt werden. Die das Nahrungsmittel durchsetzenden Bakterien können auf ihm giftige Stoffwechselprodukte bilden. Die Folge davon

1) Böhme, A., Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. LII.

ist, daß man es nach dem Genuß nicht nur mit einer Infektion, sondern mit einer begleitenden Intoxikation zu tun hat, eine Tatsache, auf die bereits von Klinikern sowohl wie von Bakteriologen hingewiesen worden ist. Die Bacillen der Typhus-, Paratyphusgruppe bilden nun keine richtigen Toxine. Wenigstens sind bisher auf unseren gebräuchlichen Nährböden keine solchen nachgewiesen. Man nimmt mit R. Pfeiffer an, daß die eigentlichen Gifte dieser Mikroorganismen im Bakterienleibe selbst haften. Nun liegt aber doch die Möglichkeit vor, daß diese Mikroorganismen lösliche, leicht in die Kulturflüssigkeit übergehende Stoffwechselprodukte erzeugen, die zwar für sich allein außer in ganz ungeheuren Mengen nicht toxisch wirken, aber doch in Gemeinschaft mit den Bacillen das Krankheitsbild verstärken. Diese letztere Ueberlegung gab für uns die Veranlassung zu folgenden Versuchen. Wir filtrierten 48-stündige Bouillonkulturen durch Chamberland-Kerzen, und nachdem wir uns von der Keimfreiheit überzeugt hatten, injizierten wir das Filtrat Meerschweinchen vom Gewicht von ca. 300 g intraperitoneal. 6 ccm wurden anstandslos ertragen. Spritzten wir aber 2 ccm dieses Filtrates zusammen mit der an und für sich nicht tödlichen Dose von  $\frac{1}{200}$  mg einer 24-stündigen Bouillonkultur Meerschweinchen intraperitoneal ein, so gingen die Tiere jedesmal innerhalb 36 Stunden zu Grunde (über die Einzelheiten und besonders über die Kontrollversuche mit steriler Bouillon vergl. Tab. IX). Die in dem Filtrate befindlichen Stoffwechselprodukte wirken also infektionsbegünstigend und zwar höchstwahrscheinlich in der Richtung, daß sie die normalen Widerstandskräfte des Organismus herabsetzen. Hierfür ist es gleichgültig, ob wir diese Stoffwechselprodukte den eigentlichen Toxinen an die Seite setzen oder ob wir sie als ausgelaugte Bakterienleibessubstanz ansehen. Wir wollen auch hier nicht die Beziehungen erörtern, welche zwischen diesen Stoffwechselprodukten und den Aggressinen von Bail<sup>1)</sup> eventuell bestehen.

Vermehren sich die mit den Nahrungsmitteln in den Digestions-traktus gelangten Mikroorganismen dieser Bacillengruppe außerdem noch ausgiebig im Organismus, kommt es hierbei zur Infektion des Lymph- und Blutgefäßsystems, so können Krankheitsbilder entstehen, die sowohl klinisch wie pathologisch-anatomisch Aehnlichkeit mit dem klassischen Abdominaltyphus darbieten. Der Lymphapparat des Darmes zeigt dann dieselben Veränderungen, wie man sie beim Abdominaltyphus zu sehen gewohnt ist. Dieses Umsichgreifen des Prozesses kann von zwei Faktoren abhängig sein, von der Virulenz der aufgenommenen Bacillen oder von der mehr oder minder großen Widerstandsfähigkeit des befallenen Organismus, oder von beiden Momenten zusammen. Bei unserer Hausepidemie werden wir wohl auf das Verhalten des großen Einzelorganismus jedesmal zurückgreifen müssen, um die Verschiedenheiten des Krankheitsverlaufs bei den einzelnen Patienten erklären zu können. Auffallend erscheint uns, daß gerade bei der Köchin, die ja klinisch allein sämtliche Symptome eines mittelschweren Typhus erkennen ließ, gleichzeitig eine Herzaffektion, eine Mitralinsuffizienz, bestand, die an und für sich ja sehr wohl eine Herabsetzung der Widerstandsfähigkeit und damit eine Erklärung für das Einbrechen der Krankheitserreger

---

1) Bail, O., Arch. f. Hyg. Bd. LII. Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XL. Heft 3. Vergl. auch Wassermann u. Citron, Dtsche med. Wochenschr. 1905 und Citron, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XL. Heft 1.

in das Zirkulationssystem bedingen kann. Da alle Vertreter der Hog-cholera- und der Enteritisgruppe eine ausgesprochene Vorliebe für den Darm haben, so ist es erklärlich, warum unter Umständen auch andere Bacillen als die spezifischen Eberth-Gaffkyschen das Typhuskrankheitsbild hervorrufen.

---

*Nachdruck verboten.*

## Ueber das Verhalten des Rotzvirus im Harne und seine Ausscheidung durch die Nieren.

[Aus dem pathologisch-anatomischen Institute der kgl. Universität zu Padua (Direktor: Prof. A. Bonome).]

Von Dr. **Giovanni Cagnetto**, Assistenten und Privatdozenten.

Uebersetzt von Dr. Kurt Tautz-Berlin.

(Schluß.)

### Untersuchung des Harns rotzkranker Tiere auf das Vorhandensein von Rotzbacillen.

Die bakteriologischen Untersuchungen der Urine der großen Tiere beziehen sich auf 6 Pferde, die experimentell mittels Rotzkulturen infiziert und dann zu verschiedenen Zeiten nach der Infektion getötet wurden.

Bei allen diesen Pferden wurde, wie ich gleich sagen will, das Blut oftmals bakteriologisch untersucht, indem ich meistens die Jugularvene aseptisch punktierte und aus ihr jedesmal eine verschiedene Blutmenge, von einigen Tropfen bis zu 300 ccm, entnahm, wie übrigens später bei jedem Falle auseinandergesetzt werden wird.

In einigen Kontrollversuchen konnte ich feststellen, daß der Rotzbacillus sehr gut in Bouillon, der Blut eines rotzkranken Pferdes hinzugefügt war, wächst; die verschiedene Serummenge, die während der Gerinnung in den einzelnen Proben frei wird, übt jedoch augenscheinlich auf die Rotzbacillen eine gewisse agglutinierende Wirkung aus. In der Tat besteht nur ein einziger Unterschied in der Wachstumsart des Mikroorganismus auf mit Blut versetzter Bouillon; während man nämlich nach der Aussäung des Rotzbacillus in einfacher Bouillon eine Kultur in Gestalt einer gleichmäßigen Trübung bekommt, enthält bei der Blut-Bouillonkultur die über dem Blutkoagulum stehende Flüssigkeitssäule eine Unzahl von grauen Flöckchen oder Körnchen in Suspension, die durch gruppenweise Vereinigung von Rotzbacillen entstanden sind. Schüttelt man das Röhrchen oder den Kolben ziemlich stark, so lösen sich die Flocken auf und das Ganze nimmt eine homogene Opaleszenz an, die es auch fernerhin beibehält.

Alle diese systematischen Blutuntersuchungen, die meistens gleichzeitig mit der Harnuntersuchung vorgenommen wurden, um den Rotzbacillus dort nachzuweisen, verliefen, wie man sehen wird, immer ergebnislos; weder während des starken Fieberanfalles, welcher gewisse Zeit (2—4 Tage) nach der Applikation der Rotzkulturen auf die blutende Nasenschleimhaut oder ihrer Einführung in den Magen auftrat, noch auch während der Temperatursteigerung, die der Malleininjektion folgte,



ja nicht einmal bei dem Auftreten der spontanen Fieberanfälle war es möglich, den Rotzbacillus im Blutkreislaufe nachzuweisen.

Bekanntlich kann bei den periodischen Septikämieen, mit welchen im Verlaufe einer Infektion die neuen Lokalisationen des Virus im Innern derjenigen Organe in Verbindung zu bringen sind, die weder durch ihre Nähe noch durch Lymphgefäße mit dem ursprünglichen Herde in besonderer Beziehung stehen, der Durchtritt und der Aufenthalt der Mikroorganismen im Blute der großen Gefäße nur von sehr kurzer Dauer sein. In der Tat ist experimentell gezeigt worden (Wyssokowitsch, Banti, Cagnetto und Tessaro), daß unter solchen Umständen, besonders wenn die Quantität des zirkulierenden Virus klein ist, die Mikroorganismen sehr rasch aus dem Blute der großen Gefäße verschwinden, um sich in den Kapillaren einiger Organe niederzulassen; dort werden sie dann entweder durch die phagocytaire Wirkung der Leukocyten und Gefäßendothelien vernichtet oder setzen sich fest und vermehren sich und bilden dadurch für den Organismus eine neue Infektionsquelle und eine beständige Gefahr einer Bakteriämie.

Vernünftigerweise muß man annehmen, wie ich auch am Anfange dieser Arbeit behauptet habe, daß diese Erscheinung auch bei chronisch rotzkranken Pferden auftritt, ferner, daß man bei diesen von Zeit zu Zeit im Verlaufe der Krankheit neue oberflächliche oder tiefe Rotzherde, auch in sehr großen Entfernungen von der Eingangspforte des Virus, entstehen sieht. Es ist als sicher anzunehmen, daß derartigen leichten periodischen Bakteriämieen auch nicht diejenigen Pferde entgehen, die, wenn auch auf gastrischem Wege, mittels gut eingehüllter Pillen infiziert worden sind; denn sie zeigten 2 oder 3 Wochen später bei der Autopsie Rotzknötchen in den Lungen.

Mit derartig infizierten Tieren, die dann zu verschiedenen Zeiten im Verlauf der Rotzinfektion getötet wurden, hatte ich es gerade zu tun, und da sich bei ihnen, wie gesagt, die Untersuchungen meistens nur auf das in der Jugularis zirkulierende Blut richteten, so war es überaus schwierig, die vielleicht nur kurze Periode der Bakteriämie zu treffen, in welcher der spezifische Bacillus im Blute der großen Gefäße zirkulierte; deshalb hebt das negative Resultat dieser bakteriologischen Blutprüfungen durchaus nicht das Interesse an dem Nachweise des Virus im Harne auf.

Nunmehr will ich in etwas eingehenderer Weise die Bemerkungen wiedergeben, welche sich auf die 6 Pferde, deren Urine ich untersucht habe, beziehen. Diese Pferde, welche wegen geringer, ihre Arbeitskraft beeinträchtigender körperlicher Fehler aus Paduaner Regimentern ausgemustert waren, konnten beim Beginne der Versuche als gesund betrachtet werden. Nichtsdestoweniger wurde ihre Annahme vom Fehlen spontaner Temperatursteigerungen während einer sehr langen Beobachtungsperiode, ferner vom Fehlen der thermischen, lokalen und Organreaktion auf Malleininjektionen abhängig gemacht; so wurde jeder Zweifel beseitigt, daß sie eventuell vor dem Zeitpunkte der experimentellen Rotzinfektion an latentem Rotz gelitten haben könnten.

1. Beobachtung. Pferd Estimo wird zum ersten Male am 28. Dezember 1903 durch Einführung von 3 großen Althee- und Honigpillen (Boli) infiziert, die in ihrem Innern den durch Abschaben von 6 Rotzagarplattenkulturen gewonnenen Belag enthalten. Die Operation gelingt sehr gut, d. h. ohne daß die Pillen zerbröckeln. Am nächsten Tage wird neues Material eingeführt, welches in gleicher Weise von

5 Rotzagarplatten gewonnen und ebenfalls in Pillenmasse eingehüllt wird. Man konstatiert die erste Temperatursteigerung ungefähr 2 Tage nach der ersten Einführung mit einem Maximum von  $40,7^{\circ}$ ; das Fieber bleibt von da ab 3 Tage kontinuierlich, dann folgt ein fieberloser Tag und nach diesem eine neue Fieberperiode mit einem Maximum von  $40,2^{\circ}$  am 8. Tage.

Am 2. März 1904 wird das Tier wieder infiziert, und zwar wieder auf gastrischem Wege mittels Einführung dreier anderer großer Pillen, die in ihrem Innern den üppig entwickelten Belag von 4 Agarplatten- und 2 schrägen Agarkulturen enthalten. Auch hier beobachtet man wieder eine beträchtliche Temperatursteigerung am 4. Tage und darauf einen subfebrilen Zustand, der mit vorübergehenden febrilen Perioden abwechselt. Das Pferd wird am 24. Oktober 1904 getötet, also ungefähr 10 Monate nach der ersten Einführung der Rotzkulturen und ungefähr 14 Tage, nachdem die Infektion die typischen Symptome, Nasenausfluß, Anschwellung der intermaxillaren Lymphdrüsen und subkutane Abscesse, an verschiedenen Körperteilen gezeigt hatte.

Während dieser 10 Monate und lange bevor der Rotz sich auf Grund der nasalen Symptome diagnostizieren ließ, also während die Infektion sich in einem latenten Stadium befand, reagierte das Pferd zu wiederholten Malen auf Malleininjektionen; außerdem bestätigte die fortschreitende Abmagerung und das periodische Auftreten des Fiebers die vorhandene Infektion. Bei der Autopsie fanden sich in der Tat zahlreiche, breite und tiefe spezifische Ulcerationen der Kehlkopf- und Luftröhrenschleimhaut, ein diffuser ulcerativer Katarrh der Nasenschleimhaut und kleine broncho-pneumonische Rotzherde, die vornehmlich in der subpleuralen Parenchymschicht beider Lungen verteilt waren. Die Nieren erwiesen sich bei makroskopischer Betrachtung als frei von spezifischen knötchenförmigen Lokalisationen und schweren degenerativen Veränderungen; nur an einigen Stellen existierten in der Rinde Inseln, die blasser als das übrige Parenchym waren und einen ins Graue, an einigen Stellen ins Rote spielenden rosa Farbenton hatten.

Der Nierensaft wurde noch auf dem Sektionsschnitt mit einer großen Platinöse aseptisch abgestrichen und von ihm Kulturen angelegt; außerdem wurde er zugleich mit ein paar Kubikcentimetern einer dichten Emulsion von Nierenbrei, der Stückchen der Rinden- und Marksubstanz enthielt, einem Meerschweinchen subkutan eingepflegt. Die Kulturröhrchen blieben steril, das Meerschweinchen aber wurde am 15. Tage tot aufgefunden; es zeigte folgenden Sektionsbefund: an der Injektionsstelle (Interskapularregion) fand sich eine große Menge gelblichen, rahmartigen, zähen Eiters, der von einer Kruste bedeckt war; ferner bestand eine phlegmonös-ulceröse Infiltration der linken Hälfte des Scrotum mit Beteiligung der dazugehörigen Tunica vaginalis und ein voluminöser Milztumor ohne Knötchenbildung. An den anderen Organen war makroskopisch nichts Besonderes zu bemerken. Die bakteriologische Untersuchung des Eiters der Injektionsstelle und des Milzsaftes zeigte deutlich zahlreiche großenteils extracelluläre, isoliert liegende, zarte, an den Enden abgerundete, manchmal mit einer zentralen Vakuole versehene Bacillen, die sich nicht nach Gram und auch nur schwach mit Ehrlichs Methylenblau färbten. Dieselben Bacillen entwickelten sich auch auf den Nährböden mit einer gewissen Langsamkeit und bildeten besonders auf Agar und Kartoffeln die typischen Rotzkolonien.

Von dem Tage, an dem das Tier zum ersten Male (28. Dezember

1903) infiziert wurde, bis zu seinem Todestage (24. Oktober 1904) wurde das Blut 13mal bakteriologisch untersucht, und zwar entweder unmittelbar nach der Einführung der infizierenden Pillen oder zur Zeit der spontanen oder infolge von Malleininjektionen auftretenden starken Temperatursteigerungen. Zur Untersuchung wurden in manchen Fällen nur wenige Tropfen Blut aus einer Randvene der Ohrmuschel entnommen und in Bouillonröhrchen getan, in anderen Fällen nahm man beträchtliche Quantitäten Blut, bis zu 200 ccm, mittels subkutaner Punktion direkt aus der Jugularis und ließ es aseptisch in große 500 bis 600 ccm einfache sterile Bouillon enthaltende Kolben fließen; diese wurden dann stark geschüttelt, um zu verhindern, daß die eventuell vorhandenen Mikroorganismen ganz und gar von dem Koagulum eingeschlossen wurden. 11mal blieben die Kulturen steril, und in den zwei Fällen, in denen eine Entwicklung stattfand, handelte es sich nicht um Mikroorganismen, die den morphologischen Eigenschaften des Rotzbacillus entsprachen. Dennoch wurde das Kulturmateriale in großer Menge subkutan gesunden Katzen, allerdings mit negativem Ergebnisse, eingepflegt; ein negatives Resultat ergaben auch die nachfolgenden Ueberimpfungen auf Agar und Kartoffeln. Auch nachdem die Symptome der Rotzinfektion, Nasenausfluß, spezifische Abscesse und Hautgeschwüre, sich deutlich gezeigt hatten, ließen sich niemals aus dem Blute Rotzbacillen züchten, obgleich man in 3 Versuchen ziemliche Mengen aus der Jugularis entnommen hatte.

Während dieser Periode von 10 Monaten wurde auch eine gewisse Anzahl von bakteriologischen Harnuntersuchungen vorgenommen. Sie beliefen sich im ganzen auf 19, und waren folgendermaßen verteilt: vier im Monat Dezember 1903, und zwar fand die erste 4 Stunden und die letzte 4 Tage nach der ersten Einführung der infizierenden Pillen statt; vier andere Untersuchungen waren im Januar 1904, und zwar zwei von diesen am 5. und 6. Tage nach der Pilleneinführung; sechs fanden im März 1904 an den 6 unmittelbar auf die dritte Pilleneingabe folgenden Tagen statt; zwei im April, einer im Mai, einer im Juni und der letzte im Oktober, am vorletzten Lebenstage des Tieres. Einige von diesen Untersuchungen, besonders vom April ab, wurden zur Zeit der spontanen Temperatursteigerungen und des nach Malleininjektion aufgetretenen Fiebers angestellt.

Die Menge des für jede Untersuchung aufgefangenen Urins schwankte zwischen 400 und 2700 ccm; man ließ ihn 10—15 Stunden lang in großen Glastrichtern sedimentieren, die an ihrer Spitze durch einen zugeklemmten Gummischlauch verschlossen waren; man nahm nun den tiefsten Teil des Sedimentes und verdünnte ihn mit einer großen Menge gekochten Wassers, um auf diese Weise die im Pferdeharn schon gleich nach seiner Entleerung so reichlich auftretenden Kristalle aufzulösen. Nach der Verdünnung wurde durch große Chamberland-Kerzen, Marke F, filtriert und dann so verfahren, wie es schon bei Besprechung der Technik im allgemeinen in ausführlicher Weise geschildert worden ist.

Bei allen diesen äußerst mühsamen Versuchen erhielt man nur ein einziges Mal ein positives Resultat, als man nämlich einen Teil (1000 ccm) des Urines untersuchte, welchen das Pferd am 4. März 1904 während eines nach der dritten Rotzbacilleneinführung aufgetretenen Fieberanfalles gelassen hatte. Der direkte mikroskopische Nachweis des spezifischen Bacillus und die mit den auf den Chamberland-Kerzen befindlichen Harnrückständen angestellten Kulturversuche gelangen nicht; dagegen

starben von zwei subkutan mit dem Filterbrei geimpften Meerschweinchen das eine nach 23, das andere nach 71 Tagen: bei der Sektion wiesen sie den für chronischen Rotz typischen Befund auf, nämlich gelblich-graue Knötchen in der Leber, in der Milz und in den Lungen. Aus den Knötchen erhielt man einen Mikroorganismus in Reinkultur, der in seinen Kolonien auf Kartoffeln dem Rotzbacillus in morphologischer, mikrochemischer, und kultureller Hinsicht genau entsprach. Das Kulturmaterial erwies sich im folgenden für drei andere Meerschweinchen und zwei junge Katzen als pathogen. Die Diagnose auf Rotz wurde so in ganz einwandfreier Weise bestätigt und die Rotznatur der Bakteriurie und die Infektiosität des Nierenparenchyms ganz sicher bewiesen.

2. Beobachtung. Pferd Gigant, am 29. Dezember 1903 zunächst kleine und oberflächliche, dann tiefere Skarifikationen der Schleimhaut des Nasenseptums auf der linken Seite (etwas oberhalb des Haut- und Schleimhautrandes der Nüstern), dann Infektion mittels eines Rotzkulturbelages einer Agarplatte. Nach noch nicht 48 Stunden wird das Tier von einem sehr heftigen Schüttelfrost ergriffen, dem eine plötzliche Temperatursteigerung bis auf  $40,9^{\circ}$  folgt; an der Impfstelle konstatiert man eine starke Schwellung der Schleimhaut, welche auf einer ca. fünf-lirestückgroßen Fläche von einer dicken Schicht blutigen Schleimes bedeckt und von einer breiten stark hyperämischen Zone umgeben ist. Während der folgenden Tage hält das Fieber an und es tritt ein schleimig-eiteriger Ausfluß aus dem linken Nasenloche auf. In der Gegend des Septum, wo man das Virus hingebracht hatte, war schon eine 10-pfennigstückgroße Ulceration mit geschwellenen und geröteten Rändern entstanden, deren Grund eine graurote Farbe hatte, granuliert und zum Teile mit einem an Rotzbacillen reichen schleimigen Eiter bedeckt war. Die intermaxillaren Lymphdrüsen derselben Seite sind vergrößert und auf Druck schmerzhaft; das Pferd atmet rasch und geräuschvoll, zeigt sich sehr niedergeschlagen und nimmt nur wenig Nahrung zu sich. Am 9. Tage wird eine Irrigation des linken Nasenloches und der Scheidewand mit Sublimatlösung (1‰) vorgenommen, um die Symptome zu mildern und die Umgebung des Tieres vor Ansteckung zu bewahren; in der Tat wird gleich darauf der Ausfluß geringer, das Fieber sinkt und wechselt mit Perioden völliger Apyrexie ab, bis es schließlich am 18. Tage ganz verschwindet und das Tier allmählich einen Zustand leidlichen Wohlbefindens erreicht.

Nichtsdestoweniger erfolgte am 21. Tage auf eine Malleininjektion eine sehr starke thermische, lokale und Organreaktion, welche erst nach 3 Tagen aufhörte; eine andere Malleininjektion mit positivem Ergebnisse wurde Ende März, darauf noch vier andere im Mai, Juni, Juli und November, mit anfangs ungewissem, später negativem Resultate vorgenommen. Den letzten Beweis für die Infektiosität des Nasenschleimes, der hoch oben in der Nasenhöhle mittels eines auf einen Glasstab gesteckten sterilen Wattetampons entnommen war, erhielt man am 4. Mai 1904, als schon der Ausfluß einige Zeit aufgehört und die Nasenschleimhaut durch Vernarbung der alten spezifischen Ulcera ihr normales Aussehen wiedergewonnen hatte. Indessen so sehr auch der gute Ernährungszustand, die Wiederherstellung der Schleimhaut, die Rückkehr der intermaxillaren Lymphdrüsen zu ihrem früheren Volumen und die dauernde Apyrexie für den Eintritt der Heilung sprechen mochten, so war damit noch nicht gesagt, daß man nicht auch einige Zeit danach das Tier mindestens als rotzverdächtig ansehen konnte. Eine aus-

gesprochene lokale Malleinreaktion, die man 2mal hintereinander nach dem 4. Mai konstatierte, konnte diesen Verdacht bis zu einem gewissen Grade rechtfertigen.

Das Pferd wurde am 5. Februar 1905 getötet, als es schon länger als 3 Monate nicht einmal lokal auf die Malleininjektion reagierte; bei der Autopsie fand man, wie man sich leicht denken kann, auch nicht die geringste Spur von Rotzlokalisationen.

An der Stelle der Ulcera des Septum fand sich nur eine kleine kreisförmige, kaum erkennbare Narbe; in den intermaxillaren Lymphdrüsen, in den Lungen und im Darme waren keine Veränderungen. Die Nieren erwiesen sich bei makroskopischer Untersuchung als völlig gesund. Die zahlreichen Impfversuche an Katzen und Meerschweinchen mit einer Emulsion aus den peribronchialen und intermaxillaren Drüsen und aus der Nasenschleimhautnarbe ergaben konstant negative Resultate.

Die Zahl der im Verlaufe der Krankheit vorgenommenen bakteriologischen Untersuchungen des Blutes belief sich im ganzen auf 6, die des Harnes auf 8; von diesen letzteren fielen 6 gerade in die Periode, in welcher die spezifischen Ulcera am Septum, der reichliche Ausfluß, die Drüsenschwellung und die starke Malleinreaktion vorhanden waren; alle diese Symptome zeigten nicht nur bestimmt, daß das Tier von Rotz befallen war, sondern konnten außerdem noch die Vermutung bestätigen, daß das Virus von der Impfstelle aus eventuell in tiefere Teile des Organismus, und zwar besonders die Nieren, gedrungen wäre. Bei diesen Untersuchungen, sowohl des Blutes als auch des Urines, wurden die gewöhnlichen Methoden der direkten Untersuchung, der Kultur und der Probe in vivo, und zwar immer mit negativem Resultate, angewendet. Sehr wahrscheinlich hatte das Virus die Schranke der intermaxillaren Drüsen nicht überschritten und hatte sich daselbst erschöpft.

3. Beobachtung. Stute Ceva. Am 18. Februar 1904 auf dem Wege durch den Verdauungskanal mittels einer großen Pille infiziert, welche in ihrem Inneren den Belag einer Kultur auf schrägem Agar enthielt, die vor dem Gebrauche eine Stunde lang einer Temperatur von 50° C ausgesetzt war. Nach 3 Tagen tritt, wie schon beim Pferde Estimo, das Fieber auf; es handelt sich jedoch um eine nicht sehr starke und nur vorübergehende Temperatursteigerung; eine andere flüchtige Temperaturerhöhung (39,6°) wird gegen Ende Februar verzeichnet. 50 Tage nach der Einverleibung des Virus gibt das Pferd deutlich und vollkommen die Malleinreaktion. Am 23. Mai 1904 werden ihm zwei andere Pillen beigebracht, die in ihrem Inneren den Belag von 10 Rotzagarplattenkulturen enthalten, und am 20. Juni wird es wieder, und zwar immer auf gastrischem Wege, mit einer ebenso großen Kulturmenge infiziert. Ende Juli 1904 reagiert das Pferd noch in vollkommener Weise auf Mallein, bei zwei anderen Malleinproben aber, die im November und Dezember 1904 ausgeführt wurden, wird die thermische Reaktion geringer und es tritt nur eine mäßige lokale Anschwellung auf, die aber schon nach 24 Stunden wieder verschwindet. Eine letzte Malleinverabreichung am 3. März 1905 hat keine Reaktion zur Folge. Das Tier wird am 27. März 1905 getötet; man findet am Integument, in der Muskulatur und den Gelenken nichts Besonderes. Von den inneren Organen zeigen nur die Lungen Rotzlokalisationen. Am unteren Teile der Pleura beider Lungen trifft man zahlreiche gelbliche bronchopneumonische Herde, die im Zentrum eine beginnende Verkäsung zeigen. In der Leber und im Innern der Darmwandungen finden sich einige kleine verkalkte Knoten

parasitärer Natur. Die Nieren sind in ihrem Volumen vergrößert und zeigen in ihrer Rinde einige graue Inseln mit roten Streifen, die sich bis in die Pyramiden verfolgen lassen. Nach Unterbindung des Blasenhalbes nimmt man die Harnblase heraus; dann aspiriert man aus der natürlichen Öffnung aseptisch den noch in ihr enthaltenen Harn, ungefähr 40 ccm, verteilt ihn in Röhrchen und zentrifugiert. Mit 5 ccm des Sediments, das man erhalten hat, impft man subkutan eine Katze. Ferner nimmt man in aseptischer Weise Stückchen aus der Rinden- und Pyramidenschicht beider Nieren, zerreibt sie in einem Mörser zu Brei und fügt etwas steriles Wasser hinzu, so daß man eine sehr dicke Emulsion erhält; mit je 2 ccm dieser Emulsion werden zwei Meerschweinchen subkutan geimpft. Nach Verlauf von 12 Tagen stirbt die mit dem Urinsediment geimpfte Katze; an der Impfstelle findet sich ein voluminöser Absceß, 3 oder 4 Pusteln an der Schnauze und multiple eitrige Periarthritiden an den Gliedern. Die Milzpulpa und das Blut dieses Tieres liefern bei Verimpfung auf Kartoffeln den Rotzbacillus in Reinkultur. Die beiden mit der Nierenemulsion geimpften Meerschweinchen zeigen an der Injektionsstelle am 4. Tage einen großen, weichen und fluktuierenden Knoten; incidiert man aseptisch und überträgt das herausgedrückte dicke eitrige Exsudat auf Kartoffeln, so erhält man die charakteristischen Kulturen des Rotzbacillus.

In der Zeit von der ersten Infektion bis zur Tötung des Tieres wurde das Blut 12mal bakteriologisch untersucht; zu diesem Zwecke entnahm man manchmal einige Tropfen aus einer oberflächlichen Ohrmuschelvene, häufiger jedoch punktierte man die Jugularis; der Nachweis des Rotzbacillus mißlang jedoch völlig.

Während dieses selben Zeitraumes nahm man 15 bakteriologische Untersuchungen des Harnes vor, der der Stute mittels Katheters entnommen wurde; 4—5 Stunden vor jeder Untersuchung ließ man das Tier trinken und überwachte es dann bis zum Augenblicke der Katheterisierung, um einen etwaigen Harnverlust durch spontanes Urinieren zu verhindern. Auf diese Weise konnte man in gut gereinigten Recipienten sehr große Harnmengen, bis zu 5400 ccm in 24 Stunden auffangen. Auf diese Vorsichtsmaßregel legte man besonders während der Zeit vom 23.—27. Mai 1904 Gewicht, d. h. am Tage der zweiten Einverleibung der Rotzkulturen und an den darauf folgenden Tagen. Eine vorübergehende Albuminurie, die am 18. Februar auftrat und mit einer starken Temperatursteigerung, bis zu 40,8° verbunden war, gab zu neuen täglichen Untersuchungen Veranlassung; trotzdem gelang es nie, abgesehen von der letzten post mortem vorgenommenen Untersuchung, im Harn den Rotzbacillus nachzuweisen, mochte man nun Kulturen anlegen oder ihn empfänglichen Tieren einimpfen. Von 12 Katzen, von denen immer eine bei Gelegenheit der Harnuntersuchung geimpft worden war, starben nur zwei, und zwar nur eine an Rotz (diese hatte nämlich das Sediment des post mortem aus der Blase entnommenen Harnes bekommen), die andere dagegen an einer eitrigen Infektion infolge einer ausgedehnten nekrotischen und fötiden Ulceration, die an einer Stelle entstanden war, wo bei einem anderen Versuche der auf den Chamberland-Kerzen gebliebene Harnrückstand eingeimpft worden war.

4. Beobachtung. Stute Cible. Am 23. Mai 1905 auf gastrischem Wege mittels zweier großer Pillen infiziert, die den 8 Tage alten Belag von 20 Kartoffeln (System Roux) in ihrem Inneren enthielten. Da die

Pillen unzerkaut verschluckt werden, so ist jeder Kontakt des Virus mit den oberen Atmungswegen ausgeschlossen.

Die ersten leichten, subfebrilen Temperatursteigerungen, mit einem Maximum von  $38,5^{\circ}$  treten am 30. Mai, also eine Woche nach der Pilleneinführung, auf. Auf eine am 16. Beobachtungstage am Bug applizierte Malleininjektion reagiert das Tier mit Fieber ( $39,5^{\circ}$ ) und einer lokalen großen, pastösen und heißen Anschwellung, von der aus 3—4 schmerzende Lymphgefäßstränge gegen die Achselhöhle hin ziehen. Eine am 19. Mai, also 4 Tage vor der Infektion vorgenommene Malleinprobe rief weder eine Temperatursteigerung noch eine lokale Reaktion hervor.

20 Tage nach der Einführung der Pillen wird das Tier getötet, ohne daß man bei einfacher äußerer Untersuchung aus irgend welchen deutlichen Symptomen eine latente Rotzinfektion hätte erkennen oder vermuten können. Bei der Autopsie finden sich in dem unteren Teile der visceralen Pleuren zahlreiche bronchopneumonische Rotzherde und am Lungenhilus ein großes Paket verdickter Lymphdrüsen von speckigem Aussehen. Auch die Lymphknoten des Mesenterium sind leicht geschwollen und gerötet; im S romanum und im Rectum sieht man drei oder vier kleine kraterförmige Ulcera der Schleimhaut mit hyperämischen Rande, von denen jedes auf einer knotenförmigen Anschwellung sitzt, die wenig größer als eine Erbse ist und bis in die Muskelschicht der Darmwand reicht. In den Nieren und der Harnblase, aus der man den Urin vor der Tötung mittels Katheterismus entnommen hat, trifft man keinerlei Veränderungen.

Kleine aseptisch aus beiden Nieren entnommene Parenchymstückchen werden in einem Mörtel zu Brei verrieben und dann mit dieser Emulsion 2 Meerschweinchen und eine Katze subkutan geimpft. Die Katze bleibt gesund, von den beiden Meerschweinchen dagegen zeigt das eine an der Infektionsstelle eine leichte Anschwellung, das andere ein hartes fibröses Knötchen. Sowohl die Anschwellung als auch das Knötchen incidiert man aseptisch und legt aus dem Inhalte Kulturen auf Agar in schräger und in Plattenform an; der Rotzbacillus läßt sich jedoch in den Kulturen nicht nachweisen.

Während der 20 Tage, die zwischen dem Zeitpunkte der Pilleneinführung und dem der Tötung lagen, ist das Blut und der Urin gleichzeitig 5mal bakteriologisch untersucht worden. Das Blut gewinnt man aus der Vena jugularis, den Urin entnimmt man durch Katheterismus und tut dann wenige Kubikcentimeter (2—3) in große Mengen von Bouillon. Etwas Urin wird jedesmal für die mikroskopische Untersuchung des Sedimentes und für die Prüfung auf Eiweiß aufbewahrt. Während die Blutkulturen steril bleiben, entwickelt sich aus denen des Harnes 4mal ein lange Ketten bildender Streptococcus und einmal ein Bakterium, welches sich zwar nicht nach Gram färbt, sich morphologisch aber vom Rotzbacillus unterscheidet. Ein negatives Resultat liefert auch die Untersuchung auf Albumen und abnorme morphologische Bestandteile.

Zu bemerken ist noch, daß die einzelnen Bouillon-Urin-Mischungen sich in der Folge als ein geeigneter Nährboden für den künstlich darauf ausgesäten Rotzbacillus erweisen.

5. Beobachtung. Stute Riserva. Gleichzeitig mit der vorigen am 23. Mai 1905 mit derselben Menge aus derselben Quelle stammenden Rotzvirus infiziert. Im Gegensatze zu den bisher betrachteten reagiert das Tier jedoch nicht deutlich auf das Virus. Am 5. Juni 1905 wird die Infektion auf demselben Wege wiederholt, indem man dazu 10 Kar-

toffel- und 12 schräge Agarkulturen von 3-tägiger Entwicklung verwendet. Die großen Pillen werden das erste wie das zweite Mal unzerkaut hinuntergeschluckt. Am 8. Juni konstatiert man eine Temperatursteigerung mit einem Maximum von  $39,1^{\circ}$ ; das Tier ist weniger lebhaft und nimmt das Futter nicht mit der sonstigen Gier. Am 14. nach 5-tägiger Apyrexie behandelt man es mit Mallein; hiernach tritt zunächst starker Schüttelfrost, verbunden mit einer lokalen handtellergroßen Anschwellung, darauf Fieber ( $39,5^{\circ}$ ) ein. Das Pferd wurde am 16. Juni, 24 Tage nach der ersten Einverleibung des Virus, getötet. Befund bei der Autopsie ergab Eingeweiderotz. Die Nasenschleimhaut und die intermaxillaren Lymphdrüsen sind vollkommen intakt; in den Lungen bemerkt man dagegen fünf subpleurale bronchopneumonische Herde, von denen zwei ungefähr nußgroß, im Zentrum gelblich gefärbt sind, eine harte Konsistenz haben und auf der Schnittfläche hepatisiert erscheinen. Die peribronchialen Lymphdrüsen sind größer als normal, hart und grau. Drei wie mit dem Locheisen ausgeschlagene linsenförmige Ulcerationen mit Knötchen am Grunde finden sich in der Darmschleimhaut, und zwar zwei im Dick- und eine im Dünndarme. Die Mesenterialdrüsen sind bohnen groß und stark hyperämisch. Von den Nieren zeigt die rechte an einigen Stellen ihrer Rindensubstanz ein geflecktes Aussehen, die linke ist normal. Die Harnblase läßt keine Besonderheiten erkennen.

Von den sechs mit dem Saft der bronchopneumonischen Herde geimpften Agarröhrchen entwickeln sich in zweien Reinkulturen des Rotzbacillus, in den vier anderen aber Kolonien, die mit verschiedenartigen Mikroorganismen (Staphylokokken, Bakterien) vermischt sind. Mit der Nierenparenchymemulsion werden subkutan eine Katze und ein Meerschweinchen geimpft. Die Katze bleibt gesund, das Meerschweinchen dagegen bekommt am 5. Tage an der Infektionsstelle ein subkutanes ungefähr maiskorngroßes Knötchen; es wird aseptisch punktiert und mit dem so gewonnenen blutig-serösen Exsudat eine Agarstrichkultur angelegt. Nach 24-stündigem Aufenthalte im Brutofen sind auf der Oberfläche des Nährbodens schon zahlreiche weißlich-opake gleichartige kleine erhöhte Kolonien mit geschweiften Rändern entstanden, die aber von einem vom Rotzbacillus verschiedenen Mikroorganismus gebildet werden.

Die bakteriologischen Untersuchungen des Blutes und des Urins wurden gleichzeitig 3mal nach der zweiten Einführung der Rotzbacillen gemacht; man ließ dabei die vorangehende Periode unbenutzt verstreichen, in welcher sich keine auf eine Infektion des Tieres hindeutende Organreaktion zeigte. Die erste Untersuchung wurde am 8. Juni 1905 vorgenommen und fiel mit der auf die zweite Viruseinführung folgenden Temperatursteigerung zusammen; die zweite fand zur Zeit der allgemeinen durch die Malleininjektion bewirkten Reaktion statt; die dritte Untersuchung wurde im Augenblicke der Tötung vorgenommen. Man wandte bei der Untersuchung des Blutes die üblichen Methoden des Aderlasses an der Jugularis an, bei der des Harnes die Katheterisierung und nachfolgende Kultivierung in Kolben. Die Resultate waren übereinstimmend negativ.

6. Beobachtung. Pferd Centro. Infiziert am 6. März 1905 durch Einführung einer großen Menge von Rotzbacillen in den Magen, welche von 9 Agarplatten stammten und in das innere von drei großen Pillen gebracht worden waren. Am 11. Tage wiederholte man die Einführung, indem man dazu vier andere Platten verwandte. Am 14. Tage



tritt das Fieber auf; das Tier liegt den größten Teil des Tages lang hingestreckt da und frißt wenig. Am 18. Tage erreicht die Temperatur 39,3°, am 19. reagiert das Pferd auf Mallein, jedoch hält sich sowohl die lokale als auch die allgemeine Reaktion in mäßigen Grenzen. Am 20. Tage wird es getötet, also 14 Tage nach der ersten und 9 nach der zweiten Einführung des Virus.

Bei der Autopsie zeigten sich an den Lungen einige spezifische Knötchen, an vier oder fünf mesenterialen Lymphdrüsen eine leichte Anschwellung und Hyperämie; außerdem waren in der Leber und in der Submucosa des Darmes noch andere teilweise schon verkalkte Knötchen von unzweifelhaft parasitärer Natur vorhanden. Die anderen Organe erweisen sich als gesund. Die Nieren insbesondere waren von normaler Größe und Konsistenz; ihre Kapsel ließ sich leicht abziehen, ihre Rinde war rosa und ohne Flecken, die Pyramiden sind nicht hyperämisch. Die Harnblase enthielt ungefähr einen halben Liter klaren Urines, der aseptisch entnommen wurde.

Mit dem aus der Jugularis desselben Pferdes stammenden Blute werden nur zwei Kulturversuche gemacht, und zwar am 15. März gleichzeitig mit dem Auftreten des Fiebers und am 19. März während der Malleininjektion. In beiden Fällen säte man reichliche Mengen in Bouillon aus und impfte dann mit den Kulturen Katzen und Meer-schweinchen, jedoch ohne irgend einen Erfolg. Ebenso erfolglos fielen die bakteriologischen Untersuchungen des Urines aus, den man am Tage der Malleininjektion (400 ccm) und am Todestage entnommen und ihn dann empfänglichen Tieren inokuliert hatte; hierbei hatte man ihn entweder in natürlichem Zustande verwandt oder vorher von ihm Bouillonkulturen angelegt.

\*       \*       \*

Mehr Glück hatte man mit den bakteriologischen Untersuchungen des Harnes und der Nieren einiger kleiner Laboratoriumstiere (Katzen, Meerschweinchen), die auf verschiedene Weise rotzkrank gemacht worden waren; ebenso waren die an einem jungen Esel angestellten Versuche erfolgreicher, dem man in die Vena jugularis eine große Menge Rotz-bouillonkultur injiziert hatte. Bei letzterem Tiere, dessen Tod am 7. Tage erfolgt war, fand man bei der Autopsie, abgesehen von zahlreichen spezifischen bronchopneumonischen Herden, eine gewisse Anzahl hämorrhagischer Ulcerationen in der Nasenschleimhaut; die Milz war sehr groß, die Nieren weich und ödematös, ihre Pyramiden waren von tiefroter Farbe, ihre Rinde hatte an Dicke zugenommen, auf der Schnittfläche ein geschwollenes Aussehen und war deutlich gefleckt. Die Blase enthielt ungefähr 400 ccm trüben und stark eiweißhaltigen Urins, in dem sich unter dem Mikroskop wenige rote Blutkörperchen, zahlreiche isolierte Nierenzellen und einige granulierte Cylinder zeigten. Aus dem Nierensaft und dem Harn dieses Esels ließen sich Rotzkulturen züchten, die man mit Erfolg zwei Katzen einimpfte.

Auf Grund der Resultate, die ich bei den Urin- und Nierenuntersuchungen der kleinen rotzkranken Tiere erhalten habe, kann ich die von anderen Untersuchern gelegentlich formulierten und von mir im ersten Teile dieser Mitteilung besprochenen Schlüsse im Prinzip nur bestätigen.

Bei den rotzkranken Katzen wird der spezifische Bacillus sehr häufig mit dem Urin ausgeschieden, weniger häufig dagegen bei den Meer-

schweinchen, bei welchen man die Bakteriurie meiner Meinung nach als ein seltenes Ereignis zu betrachten hätte.

In dieser Hinsicht steht mir eine Gruppe von 7 Beobachtungen zur Verfügung; ich habe nämlich bei Meerschweinchen, die subkutan mit 2—3 ccm Bouillonkultur geimpft waren, nicht allein gleich nach ihrem Tode den Urin und die Nieren bakteriologisch untersucht, sondern auch das Verhalten des Harnes im Laufe der Infektion verfolgt, indem ich zu diesem Zwecke die schon erwähnten Methoden der Bouillonkultur und der direkten Inokulation des auf den Chamberland-Filtern zurückgebliebenen Rückstandes anwandte. In allen diesen Fällen entwickelten sich nach der Sektion aus dem Milzsaft Rotzkolonien, während das Herzblut und der Urin sich nur 2mal als bacillenhaltig erwies. Bei einem von den beiden Meerschweinchen, deren Harn infektiös war, bestand eine doppelseitige ganz typische Rotzorchitis und im Urin sah man unter dem Mikroskop zahlreiche Spermatozoen; es ist daher nicht ausgeschlossen, daß die im Urin gefundenen Rotzbacillen entweder ganz oder nur teilweise aus dem Hoden und nicht aus der Niere stammen.

Man beachte, mit welcher Leichtigkeit bei Meerschweinchen nach dem Tode die Spermatozoen aus den Vasa deferentia in die Harnblase gelangen. Dies geschieht wahrscheinlich dadurch, daß sie infolge der agonalen Krämpfe aus den Samenbläschen in das Lumen der Urethra gepreßt werden und durch diese in die Blase wandern. Dieser Befund zwingt uns angesichts des häufigen Vorkommens von spezifischen Hodenerkrankungen beim rotzkranken Meerschweinchen, etwas vorsichtig bei der Entscheidung der Provenienz der Rotzbacillen zu sein, die eventuell post mortem im Harne der Meerschweinchen gefunden werden, wenn man nicht durch eine genaue mikroskopische Untersuchung die Anwesenheit von Spermatozoen in demselben Urin ausschließen kann.

Bei den rotzkranken Katzen ist es, wie gesagt, eine Ausnahme, wenn man keine Rotzbacillen im Urin findet. Dies hängt wahrscheinlich mit dem raschen Verlaufe der Infektion und dem Umstande zusammen, daß bei Katzen viel leichter Septikämie und degenerative oder entzündliche Veränderungen des Nierenparenchyms eintreten (Bonome).

Mögen die in den Digestionstraktus eingeführten Virusmengen auch noch so reichlich gewesen sein, so findet doch in den ersten Stunden danach eine Ausscheidung spezifischer Bacillen durch die Nieren nicht statt. Davon habe ich mich nicht nur bei den Pferden, sondern auch bei den kleinen Tieren (Katzen, Meerschweinchen) überzeugen können, bei welchen man besser als bei Pferden eine sorgfältige bakteriologische Untersuchung des Harnes vornehmen kann, da sie ihn nur in relativ geringer Menge sezernieren. Es ist sicher, daß die Rotzbacillen, wie schon Nocard und Schütz gezeigt haben und auch wir durch vielfache Erfahrungen haben bestätigen können, im Magendarmkanal keine für ihre Entwicklung geeignete Umgebung finden. Die Tatsache, daß wir manchmal Katzen und Meerschweinchen ungestraft sehr große Mengen von Rotzkulturen und -eiter in sich aufnehmen sehen, zwingt uns vielmehr zu der Annahme, daß die Rotzbacillen durch den Kontakt mit den Verdauungssäften des lebenden Tieres, auch wenn es sonst empfänglich ist, in manchen Fällen vollkommen zerstört werden können.

Natürlich kann in solchen Fällen die Ausscheidung des Rotzbacillus durch die Nieren nicht stattfinden und auch nicht einmal vermutet werden. Mit ihrer Möglichkeit wird man nur in den Fällen rechnen können, in welchen der Bacillus seiner Zerstörung im Darmkanale entronnen ist, die Barriere der Schleimhaut des Verdauungskanales überschritten hat und sich nun irgendwo, z. B. in einer Drüse, festsetzt, die in direkter Verbindung mit dem Magendarmkanal steht; aus dieser kann der Bacillus dann in den Blutstrom gelangen, auf diese Weise die Nieren erreichen und so mit ihrem Sekrete ausgeschieden werden.

Diese Reihenfolge der Vorgänge konnte ich genau bei einer Katze feststellen, welcher zwei mit dem Belage einer Rotzkartoffelkultur angefüllte Gelatine kapseln einverleibt waren; man fand nämlich bei ihr bei der Autopsie am 9. Tage ein Paket verkäster Lymphdrüsen im Mesenterium, und außerdem erwies sich der Urin als infektiös.

### Schlußfolgerungen.

Die Schlüsse, zu denen ich mich auf Grund der im Verlaufe dieser Untersuchungen verzeichneten Resultate berechtigt halten kann, sind zweierlei Art: die einen beziehen sich auf die Umstände der Zeit und der Art und Weise, an welche die Erhaltung der pathogenen Wirkung der mit dem Harne ausgeschiedenen Rotzbacillen gebunden ist; die anderen betreffen die Fähigkeit des Rotzbacillus, auf dem Wege der Ausscheidung durch die Nieren in die Außenwelt zu gelangen. Diese beiden Fragen berühren sehr nahe eine der interessantesten Seiten der Biologie des Rotzerregers.

Die Frage der Pathogenität des im Harne suspendierten Rotzbacillus hat durch meine Versuche eine Lösung gefunden, die, wenn ich nicht irre, sehr viele wichtige Hinweise für die Praxis enthält. In der Tat habe ich folgendes zeigen können.

1) Im Urin des Pferdes, des Esels, der Katze und des Menschen kann sich der Rotzbacillus während eines Zeitraumes von mindestens 30—35 Stunden bis höchstens 3—4 Tage pathogen erhalten.

2) Schon vor dieser Zeit zeigt er so bedeutende morphologische und mikrochemische Modifikationen, daß ein unbefangener Beobachter Schwierigkeiten haben würde, ihn nur mittels der bakterioskopischen Untersuchung zu identifizieren.

3) Neben diesen mit dem Auge erkennbaren Modifikationen zeigt der Bacillus auch noch andere, mehr in seinem Inneren liegende, welche seine Virulenz betreffen; in der Tat erleidet er allmählich eine so starke Abschwächung, daß er schließlich die Fähigkeit, eine Allgemeininfektion hervorzurufen, verliert und sich seine krankmachende Wirkung selbst bei den empfänglichsten Tieren (Katzen) nur noch auf die Inokulationsstelle beschränkt.

4) Die erwähnten Veränderungen in der Form, dem Chemismus und der Pathogenität des Rotzbacillus treten im Harne der rotzkranken Tiere, auf welchen wir hauptsächlich unsere Aufmerksamkeit richten müssen, viel früher auf, als im Urin gesunder Tiere. Wahrscheinlich steht diese Erscheinung zum Vorkommen besonderer spezifischer Antikörper in Beziehung, die aus dem Blute der rotzkranken Tiere in den Harn übergehen.

5) Die Abschwächung, welche der Rotzbacillus im Kontakt mit dem Harne der rotzkranken Tiere erleidet, ist ganz charakteristisch und sehr sonderbar, denn sie beeinflusst mehr sein vegetatives Verhalten auf

künstlichen Nährboden, als daß sie ihn in seiner pathogenen Wirkung schädigt.

6) Im Pferdeharn in trockenem Zustande verliert der Rotzbacillus schon nach 20 Stunden, und vielleicht auch noch früher, seine ganze Virulenz.

Bezüglich der Ausscheidung des Rotzbacillus durch die Nieren bin ich zu dem Schlusse gekommen, daß diese bei den kleinen für Rotz empfänglichen Laboratoriumssäugetieren viel häufiger als bei den großen Tieren stattfindet. Deshalb darf man jedoch dieses gefährliche Verbreitungsmittel der Krankheit in den Pferdeställen nicht unbeachtet lassen. Bei ungefähr 50 Versuchen ist es mir allerdings nur 2mal gelungen (bei Estimo und Ceva), die Infektiosität des Harnes des rotzkranken Pferdes zu demonstrieren; wenn ich aber meine Ueberzeugung offen bekennen soll, so muß ich den Verdacht aussprechen, daß die Versuchstechnik, so skrupulös sie auch durchgeführt ist, nicht immer den an sie gestellten Anforderungen genügt hat. Dieser Zweifel findet noch in dem Umstande eine Stütze, daß bei 2 Pferden trotz des Nachweises der Rotzbacillen in den Nieren ihre Urine nur 2mal einen positiven bakteriologischen Befund ergaben. Die Annahme nun, daß die Bacillen erst kurze Zeit vor dem Tode des Tieres in die Nieren eingedrungen seien, ist zum mindesten wenig wahrscheinlich und würde jedenfalls bei einem (Estimo) der beiden Pferde mit der Tatsache in Widerspruch stehen, daß man die Infektiosität des Harnes schon 7 Monate vor seiner Tötung festgestellt hatte. Andererseits können wir aber, nach der anatomischen Beschaffenheit der Nieren zu urteilen, die in beiden Fällen ein vergrößertes Volumen aufwiesen, etwas weich waren und isolierte graue oder fleckige Inseln in der Rindensubstanz zeigten, nicht recht annehmen, daß sie nur passiv die Rotzbacillen beherbergen könnten, ohne sie in größerer oder geringerer Menge mit dem Harne auszuscheiden.

Padua, Juni 1905.

---

*Nachdruck verboten.*

## L'endo-toxine du cocco-bacille de Pfeiffer.

[Travail du laboratoire de médecine expérimentale de Bucarest,  
Prof. Dr. Cantacuzène.]

Note préliminaire.

Par Dr. A. Slatineanu.

L'existence de cette endo-toxine était démontrée depuis les expériences de Cantani. Cet auteur, en inoculant dans le cerveau des cobayes des quantités minimales de bacilles de Pfeiffer tués par la chaleur à 60°, provoquait la mort de ces animaux avec des lésions nécropsiques identiques à celles obtenus par l'inoculation intra-péritonéale. Par conséquent les corps de microbes tués par la chaleur à 60° contenaient une toxine. Toutefois cette endo-toxine était collée aux corps microbiens, et des essais infructueux avaient été faits pour isoler la toxine. Delius et Kolle, Cantani et moi-même nous n'avons guère réussi.

Nous sommes parvenus à obtenir cette séparation en suivant les indications du Dr. Besredka (Ann. de l'Inst. Pasteur. 25 juillet 1905) que nous avons légèrement modifiées. Voici notre façon de procéder: On ensemence une boîte Roux avec le cocco-bacille de Pfeiffer<sup>1)</sup> sur gélose sanglante (sang de pigeon) suivant le procédé Delius et Kolle. La culture obtenue après un séjour de 24 heures à l'étuve à 37° est emulsionnée avec de l'eau physiologique. L'émulsion est centrifugée pendant 3 heures à la centrifuge électrique. On décante et le culot microbien est repris avec un mélange de parties égales d'eau distillée stérile et sérum normal de cheval recueilli fraîchement. La quantité de microbes recueillis après centrifugation est équivalente à 0,25 cg de microbes secs. Ces 0,25 cg de corps microbiens sont repris par 5 ccm de sérum frais de cheval et 5 ccm d'eau distillée stérile. Le tout est mis à la glacière (sur la glace même) et séjourne 12 heures. On centrifuge à nouveau pendant trois heures et le liquide décanté contient l'endo-toxine. Mais dans notre expérience, les corps microbiens gardent une partie de leurs toxicité et virulence. Ainsi les corps microbiens injectés à 2 cobayes tuent ces animaux en 12 heures. Ensemencés sur milieu propice ils cultivent abondamment. L'endo-toxine ainsi obtenu est inoculée dans le cerveau des cobayes après trépanation préalable. La quantité injectée est la 22<sup>ème</sup> partie d'un cent. cube. Les cobayes injectés meurent dans 6—10 heures, avec hypothermie. Cette expérience a été répétée 4 fois avec les mêmes résultats. Nous donnons dans le tableau suivant la marche des températures choisissant les plus irrégulières.

Poids	Cobayes inoculés dans le cerveau avec la 22 <sup>ème</sup> partie d'un ccm d'endo-toxine						Témoins inoculés avec la 22 <sup>ème</sup> partie d'un ccm d'un mélange de parties égales de sérum frais de cheval et eau distillée stérile ayant séjourné 12 heures à la glacière	
	Cob. a 800 g	Cob. b 900 g	Cob. c 600 g	Cob. d 350 g	Cob. e 550 g	Cob. f 850 g	Cob. I 800 g	Cob. II 370 g
Température avant inocul.	39,0°	39,2°	39,5°	38,9°	39,2°	39,5°	39,5°	39,0°
2 heures après	37,0°	39,5°	36,5°	37,5°	38,5°	36,5°	39,8°	39,0°
4 " "	35,0°	37,5°	34,5°	35,3°	34,5°	35,5°	40,0°	39,5°
6 " "	34,5°	36,5°	32,5°	36,5°	mort	33,5°	40,0°	40,0°
8 " "	36,2°	35,5°	mort	36,5°		mort	40,5°	40,0°
10 " "	mort	mort		34,3°			41,0°	40,2°
12 " "				34,8°			40,0°	39,5°
14 " "				35,2°			39,5°	39,0°
16 " "				36,2°			39,5°	39,2°
				mort			39,0°	39,5°
							2	2
							vivants bien portants	

D'après la marche de la température on constate que les mêmes phénomènes se passent, soit qu'on injecte l'endo-toxine dans le cerveau soit qu'on inocule des microbes vivants par voie intra-péritonéale. Voici la marche de la température dans ce dernier cas:

1) Le cocco-bacille employé a été isolé par nous dans le courant du mois de Février 1905. Depuis, il est entretenue au laboratoire par ensemencements successifs dans passage sur l'animal. C'est dire qu'il est d'une virulence minime et qu'il faut au moins 2 tubes de culture pour tuer un cobaye de 400 g en 12 heures.

Cobaye de 700 g inoculé dans le péritoine avec une dose mortelle de microbes de Pfeiffer vivants:

avant l'inoculation	38,9°
2 heures après	40,2°
4 " "	37,5°
6 " "	35,2°
8 " "	34,1°
10 " "	31,5°
12 " "	†

D'après ce qui précède on voit que l'analogie est complète. A l'autopsie des animaux morts par inoculation intra-cérébrale de l'endo-toxine, on constate quelquefois une légère hyperhémie au niveau du point inoculé. Des cultures du point d'inoculation ont été faites régulièrement pour contrôler si quelques microbes, échappés à la centrifugation n'ont point pullulé dans le système nerveux milieu essentiellement propice. Ces cultures sont restées régulièrement stériles.

Du côté des organes abdominaux on constate une forte hyperhémie de la paroi abdominale et des viscères abdominaux. La vessie est régulièrement remplie d'urine les vaisseaux mésentériques distendus (les veines) le foie noirâtre la rate légèrement augmentée de volume les capsules surrénales fortement congestionnées. Le poumon présente régulièrement des marbrures échyмотiques sur toute son étendue.

La même endo-toxine a été inoculée dans le péritoine de plusieurs cobayes. Ce n'est que les cobayes qui ont reçu au moins 5 ccm d'endo-toxine qui sont morts dans les 4—5 jours qui ont suivi l'inoculation. Cette expérience n'a porté que sur 3 cobayes de petite taille (300—400 g) qui sont morts avec des phénomènes de cachéxie intense ils ont perdu presque la moitié de leur poids.

A l'autopsie le phénomène le plus important était la dégénérescence graisseuse du foie et une rate enorme (presque 6 fois plus que les dimensions normales).

Nous avons obtenu les mêmes résultats avec des microbes tués. Les microbes étaient tués par le séjour à la chaleur à 55° pendant 1/2 heure. Pour le reste la manipulation restait la même. L'inoculation intra-cérébrale des mêmes quantités était suivie de mort. Toutefois la marche de la température est si irrégulière qu'on ne peut déduire aucune règle. Je donne ci-jointe la marche de la température avec celle des témoins.

Poids	Endo-toxine provenant de microbes tués par la chaleur (22 <sup>me</sup> partie d'un ccm)					Témoins inoculés par mélange de sérum + H <sub>2</sub> O stérile	
	Cob. I 575 g	Cob. II 600 g	Cob. III 600 g	Cob. IV 350 g	Cob. V 420 g	Cob. a 450 g	Cob. b 350 g
Température avant l'inocul.	39,1°	39,5°	38,9°	39,5°	39,1°	39,0°	39,5°
2 heures après	37,0°	36,5°	36,0°	37,1°	37,5°	39,5°	40,0°
4 " "	38,0°	35,5°	mort	35,1°	38,0°	39,9°	40,2°
6 " "	37,5°	38,2°		mort	39,5°	39,5°	41,0°
8 " "	mort	39,5°			39,5°	39,5°	40,0°
10 " "		mort			38,2°	39,0°	39,8°
					mort le lendemain	vivants bien portants	

Des expériences ultérieures sont en train pour élucider ces points en litige.

*Nachdruck verboten.*

## Die Tuberkulose bei der Bienenmotte (*Galeria melonella*).

[Aus dem Zoologischen Laboratorium der Akademie der Wissenschaften in St. Petersburg.]

Von **S. Metalnikoff**.

Mit 2 Tafeln.

(Schluß.)

Indem wir alles Obengesagte zusammenfassen, können wir uns folgendes Bild von dem Kampfe der Raupe mit der Tuberkulose entwerfen:

Sofort nach der Injektion unterliegt ein Teil der Tuberkelbacillen sehr rasch der Einwirkung der Phagocyten und wird von diesen zerstört. Der andere, größere Teil der Bacillen wird von den Leukocyten fixiert, welche Anhäufungen und Plasmodien bilden, in deren Innerem eine rasche Zerstörung der Tuberkelbacillen vor sich geht. Gleichzeitig strömen andere Leukocyten zu diesen Brennpunkten der Zerstörung heran, indem sie eine Kapsel bilden. Um diese kompakten Kapseln herum wird häufig noch ein retikuläres Gewebe gebildet, in dessen Maschen sich einzelne Phagocyten oder Gruppen von solchen befinden.

Von Interesse ist an dieser Stelle ein Vergleich dieser Gebilde mit analogen Bildungen bei den Wirbeltieren. Bekanntlich werden bei der Infektion der Wirbeltiere mit Tuberkulose in verschiedenen Organen sogenannte Tuberkeln gebildet. „Die besonders typisch gebauten Tuberkeln zeigen folgende Eigentümlichkeiten. Den Mittelpunkt bildet eine Riesenzelle, die den früher betrachteten Fremdkörperriesenzellen ähnlich ist. Nur ist bei ihr im allgemeinen die Randstellung der Kerne schärfer ausgeprägt und die Begrenzung ist häufig zackiger, da von ihr oft bald mehr, bald weniger zahlreiche Ausläufer ausgehen. Doch gibt es auch völlig abgerundete, ausläuferfreie Riesenzellen. Ihre Größe und Form wechselt. An sie schließt sich ringsum eine retikuläre Substanz an, in welcher Lymphocyten und größere „epitheloide“ Zellen in wechselnder Menge eingelagert sind.“ (Lehrbuch der Allgem. Pathologie von Dr. Hugo Ribbert, p. 376.)

Aus dieser Beschreibung des histologischen Baues der Tuberkeln geht hervor, daß die Tuberkeln ganz analoge Bildungen darstellen und ihrem Bau nach den sogenannten Kapseln der Bienenmotte ähnlich sehen.

In der Tat bestehen die Kapseln, wie wir oben gesehen haben, einerseits aus einer zentralen, vielkernigen Zelle, welche ich als Plasmodium bezeichnet habe, andererseits aber aus einer Menge von Blutkörperchen, welche eine umgebende Hülle und ein retikuläres Gewebe bilden.

Das gleiche Bild sehen wir im wesentlichen auch bei der Tuberkel, mit Ausnahme der Kapsel, welche dort nicht zur Bildung gelangt. Die Riesenzelle zeigt keinen wesentlichen Unterschied von dem Plasmodium. Hier wie dort haben wir es mit einer großen, vielkernigen Zelle zu tun. Die Frage besteht nur darin, auf welche Weise diese vielkernige Zelle in diesem und in jenem Falle gebildet wird.

Ungeachtet der ungeheuren Anzahl von Arbeiten, welche die Entstehung der Riesenzellen betreffen, ist diese Frage bis jetzt noch nicht definitiv entschieden worden.

Nach der Ansicht der einen Forscher entsteht die Riesenzelle aus einer einzigen Zelle durch Vermehrung der Kerne, nach der Ansicht Anderer dagegen ist sie ein Produkt der Verschmelzung vieler Zellen.

Einige Forscher weisen nach, daß die Riesenzelle von unbeweglichen Zellelementen des Bindegewebes und sogar des Epithels her stammt, andere konstatieren, daß an der Bildung der Tuberkeln und Riesenzellen hauptsächlich bewegliche Elemente beteiligt sind. „Le tubercule est composé d'une réunion de phagocytes d'origine mésodermique qui affluent vers les endroits où se trouvent les bacilles et les englobent. Les phagocytes restent sous forme de cellules épithélioïdes ou se transforment en cellules géantes. Ces dernières peuvent se développer d'une façon différente, qui aboutit toujours à la formation de grandes masses protoplasmiques renfermant plusieurs noyaux“. (Leçons sur la pathologie comparée de l'inflammation par E. Metchnikoff, p. 191.) In dieser Weise beschreibt Metschnikoff die Tuberkeln.

Alle diese Widersprüche haben die Schwierigkeit zur Ursache, welche mit der Untersuchung dieser Frage bei den Wirbeltieren verknüpft ist, wo die Tuberkeln in verschiedenen Organen und Geweben gebildet werden und wo die Organisation überhaupt so außerordentlich kompliziert erscheint.

Die Insekten bieten in dieser Hinsicht ein bedeutend dankbareres Material dar. Sie besitzen kein kompliziertes Gefäßsystem, überhaupt kein solch kompliziertes System von Organen und Geweben; dabei werden die Tuberkeln hier niemals innerhalb von Geweben, sondern stets in der Leibeshöhle gebildet.

Da nun in der Leibeshöhle außer den freien Blutelementen keine anderen Zellen vorhanden sind, so war man schon a priori zu der Voraussetzung berechtigt, daß auch keinerlei andere Zellen, außer den Blutkörperchen, an dem Aufbau des Plasmodiums und der Kapsel teilnehmen. So erwies es sich denn auch in der Tat.

Welches ist nun das weitere Schicksal der Kapseln und der darin enthaltenen Bacillen?

Indem man solche Kapseln nach bestimmten Zeitintervallen untersucht, kann man bemerken, wie sich sowohl der Inhalt derselben als auch ihre Wandungen allmählich verändern. Unmittelbar nach der Injektion besteht der Inhalt der Kapseln aus normalen, gut färbbaren Bacillen. Nach Verlauf von 1—2 Stunden ist ein Teil der Bacillen braun geworden; er hat an Umfang zugenommen und befindet sich augenscheinlich auf dem Wege des Zerfalles. Nach 2—3 Tagen hat sich die gesamte, im Inneren der Kapsel befindliche Menge von Bacillen in eine kompakte braune Masse verwandelt. Nicht selten kann man in dieser dunkelgefärbten Masse Gruppen normaler, sich gut färbender Bacillen antreffen, sowie alle Uebergangsstadien zu den im Zerfalle begriffenen Bacillen. Nach 4—5 Tagen hat der Inhalt der Kapsel eine noch dunklere Färbung angenommen und dabei offenbar seine Konsistenz verändert, indem er sich in eine halbflüssige Masse verwandelt hat (Fig. 9). Gleichzeitig beginnen die Wandungen der Kapseln kompakter zu werden, während alle Zellen, welche die Kapsel umgeben, eine gleichartige, an Bindegewebe erinnernde Zellmasse bilden.

Nach Verlauf eines längeren Zeitintervalls, d. h. nach etwa 7 bis 10 Tagen, kann man die allmähliche Auflösung dieser dunklen halbflüssigen Masse in dem Blutplasma beobachten. Auf diese Auflösung weisen auch noch andere Tatsachen hin, und zwar das Verhalten, welches



die bei den Insekten stets zu beiden Seiten des Herzens liegenden sogenannten Pericardialzellen zu diesen Prozessen an den Tag legen.

Bekanntlich schreibt man den Pericardialzellen exkretorische Funktionen zu, was von A. Kowalevsky zuerst nachgewiesen wurde. Injiziert man den Insekten Lösungen gewisser Farbstoffe, wie z. B. ammoniakalischen Karmin, so wird der Farbstoff von den Pericardialzellen aufgenommen. Während die Phagocyten feste Substanzen und Bakterien verschlucken, welche zufällig in das Blut geraten sind, verschlucken die Pericardialzellen nach der Theorie von Kowalevsky unnütze oder sogar schädliche Lösungen, welche sie auf diese Weise aus dem Blute entfernen.

Auch die Bienenmotte besitzt ebensolche Pericardialzellen<sup>1)</sup>.

Unmittelbar nach der Injektion von Tuberkelbacillen verhalten sich diese Pericardialzellen dem Prozeß der Ausscheidung gegenüber vollständig teilnahmslos. Ihr Protoplasma bleibt farblos.

Nach 10–14 Tagen (um diese Zeit hatten sich die Raupen meist in Puppen oder sogar schon in Schmetterlinge verwandelt), wenn sich der gesamte Inhalt der Kapseln in eine dunkle, halbflüssige Masse verwandelt hat, welche in dem Blutplasma aufgelöst wird, beginnen die Pericardialzellen ihre exkretorische Funktion auszuüben. Das Protoplasma der Pericardialzellen erfüllt sich mit dunkelbraunen Einschlüssen, welche nichts anderes darstellen, als das Pigment der Tuberkelbacillen (s. Fig. 12).

Die in die Leibeshöhle der Raupe eingeführten Tuberkelbacillen werden demnach außerordentlich rasch zerstört und zwar entweder innerhalb der Phagocyten oder im Inneren besonderer vielkerniger aus Leukocyten gebildeter Plasmodien, oder endlich im Inneren der Kapseln. Außerdem gelang es mir in einigen Fällen, Massen von in der Zerstörung begriffenen Bacillen auch außerhalb von Zellen, in dem Blutplasma, zu beobachten. Alle diese Beobachtungen berechtigen zu der Schlußfolgerung, daß die Blutkörperchen, und sogar das Blutplasma selbst der Bienenmottenraupen irgend eine ungemein tätige Substanz enthält, welche die Fähigkeit besitzt, Tuberkelbacillen außerordentlich rasch zu zerstören.

Woher stammt nun diese in dem Blute enthaltene Substanz? Sind es jene verdauenden Fermente, welche dazu befähigt sind, Wachs aufzulösen und deren Existenz im Darne keinem Zweifel unterliegen kann, oder sind es Fermente der intranukleären Verdauung aus den Phagocyten, welche bei eintretender Phagolyse in das Blutplasma gelangen?

Auf Grund der negativen Resultate, welche ich bei der Fütterung der Raupen mit Tuberkelbacillen erzielte, wird man annehmen müssen, daß die aktive, die Tuberkelbacillen zerstörende Substanz in den Phagocyten enthalten und von diesen letzteren hervorgebracht wird.

Ein bedeutendes praktisches Interesse kommt der Frage zu, ob das Blut der Bienenmottenraupe die Fähigkeit besitzt, in vitro oder nach der Injektion eines anderen, mit Tuberkulose infizierten Tieres auf die Tuberkelbacillen einzuwirken?

Um diese Frage zu entscheiden, untersuchte ich die Wirkung, welche das Blutserum der Raupen außerhalb des Organismus auf die Tuberkelbacillen ausübt. Ich entnahm den Raupen Blut auf möglichst sterile Weise und fügte Tuberkelbacillen hinzu. Nach Verlauf einer bestimmten

1) Metalnikoff, Beiträge zur Kenntnis der Anat. der Raupe von *Galleria mel.* (Zool. Anz. Bd. XXVI.)

Zeit untersuchte ich diese Mischung und injizierte dieselbe Meerschweinchen. Obgleich es mir bis jetzt nicht gelungen ist, solche Bilder der Zerstörung der Tuberkelbacillen zu finden, wie sie innerhalb des Organismus beobachtet werden, so scheinen diese Bacillen nichtsdestoweniger unter der Einwirkung des Raupenblutes ihre giftigen Eigenschaften zu verlieren.

Ich sage, sie scheinen sie zu verlieren, da ich zur sicheren Verantwortung einer so überaus wichtigen Frage noch zu wenig Versuche angestellt habe. Aus diesem Grunde enthalte ich mich einstweilen aller entscheidenden Schlußfolgerungen<sup>1)</sup>.

Es liegen jedoch unabhängig von diesen Versuchen noch Angaben vor, welche darauf hinweisen, daß die Tuberkelbacillen von dem Blutplasma auch außerhalb der Zelle zerstört werden können. In mehreren Fällen ist es mir, wie ich bereits oben bemerkt habe, gelungen, Massen halberstörter braun gewordener Tuberkelbacillen außerhalb der Kapseln und außerhalb von Zellen zu finden (s. Fig. 10). Allerdings beobachtete ich in der Nähe solcher Massen stets zahlreiche Gruppen von Leukocyten; ebenso habe ich in ihrem Inneren auf dünneren Schnitten einzelne zerstreut liegende Phagocyten nachweisen können.

Möglicherweise geht unter der Einwirkung der Injektion eine Phagolyse vor sich, wobei die Fermente, welche die Tuberkelbacillen mit einer so wunderbaren Geschwindigkeit zerstören, in das Blutplasma gelangen.

Schon Koch hat in seiner klassischen Arbeit über die Tuberkulose („Die Aetiologie der Tuberkulose“, Mitteilungen aus dem K. Gesundheitsamte. Bd. II. 1884) die Aufmerksamkeit auf den Umstand gelenkt, daß die Tuberkelbacillen innerhalb der Riesenzellen gewissen Veränderungen unterliegen.

In ausführlicher Weise werden diese Prozesse von Metschnikoff in seiner Arbeit über die Tuberkulose der Ziesel erforscht („Ueber die phagocytäre Rolle der Tuberkelriesenzelle. Virchows Archiv. Bd. CXIII. 1888 und „Leçons sur la pathologie comparée de l'inflammation“, p. 192).

Metschnikoff infizierte Ziesel mit Tuberkulose. Obgleich diese Tiere nicht immun gegen Tuberkulose sind, so sind sie dennoch im stande, ziemlich beträchtliche Dosen davon zu vertragen. Bei der mikroskopischen Untersuchung verschiedener Organe mit Tuberkulose infizierter Ziesel fand dieser Forscher Tuberkelbacillen in den Riesenzellen. Die dabei beobachtete Veränderung und allmähliche Degeneration der Tuberkelbacillen erinnert außerordentlich an die Erscheinungen, welche wir bei der Bienenmottenraupe beschrieben haben.

Bei dem Ziesel gehen diese Prozesse viel langsamer vor sich, sie erfolgen stets innerhalb der Zellen und führen dabei nicht zur vollständigen Gesundung des Tieres, wie dies bei der Bienenmotte stets der Fall ist. Die Bienenmotte ist zweifellos immun in Bezug auf die Tuberkulose, und diese Immunität wird einerseits durch die Tätigkeit der phagocytären Zellen, andererseits durch die direkte Zerstörung der Tuberkelbacillen innerhalb der Plasmodien, der Kapseln und im Blute erzielt.

Metschnikoff beschreibt seine Beobachtungen, wie folgt:

„Ainsi j'ai pu constater une dégénérescence très caractéristique des bacilles tuberculeux d'origine humaine et aviaire dans les cellules épithé-

1) Nachträglich ist es mir gelungen, diese Frage näher aufzuklären, worüber ich in einem späteren Aufsätze Mitteilung machen werde.

lioides et surtout dans les cellules géantes des spermophiles, animaux qui, en général, résistent assez bien à la tuberculose. Les bacilles, évidemment sous l'influence des cellules citées, deviennent plus gros et perdent peu à peu leur propriété de fixer la coloration. Ensuite le bacille se transforme en un corps jaunâtre, en forme de saucisson, dans l'intérieur duquel on voit un canal très mince. Les bacilles ainsi déformés se reunissent en une masse qui prend l'aspect caractéristique d'un morceau d'ambre et frappent l'attention par leur coloration brunâtre. . .

Dans tous ces cas, il s'agit de sécrétions anormales de la part des parasites, réagissant à l'influence des phagocytes qui les renferment ou les entourent. . .“

Das Anschwellen der Hülle bei den Tuberkelbacillen stellt demnach nach Metschnikoff nichts anderes dar, als eine intravitale Reaktion, eine Art Selbstschutz der Tuberkelbacillen gegen die zerfressende Wirkung der verdauenden Säfte der phagocytären Zelle.

Ist diese Ansicht berechtigt, so ist die Bildung solcher Hüllen nur von seiten lebender Bacillen möglich, in keinem Falle aber kann sie bei abgestorbenen Zellen stattfinden.

Um dieser Frage näherzutreten, injizierte ich den Raupen Tuberkelbacillen, welche durch Erwärmen abgetötet worden waren. Die toten Tuberkelbacillen werden mit derselben Geschwindigkeit zerstört, wie die lebenden. Bereits nach Verlauf einer Stunde findet eine vollkommene Phagocytose und die Bildung von Kapseln mit schwarz gewordenen Tuberkelbacillen statt.

Bei der Untersuchung des Inhaltes dieser Kapseln auf Strichpräparaten und Schnitten bemerkte ich dieselben Formen in der Zerstörung der Tuberkelbacillen wie bei dem Injizieren lebender Bacillen.

Hieraus geht hervor, daß die Größenzunahme der Tuberkelbacillen sowie die Ausscheidung von Pigment in keinem Falle als eine Reaktion des Tuberkelbacillus intra vitam angesehen werden kann. Diese Erscheinungen sind zweifellos ein Ergebnis jenes Verdauungsprozesses, welchem die Tuberkelbacillen innerhalb der Phagocyten und Kapseln unterliegen.

Alle oben dargelegten Versuche habe ich mit der Menschentuberkulose ausgeführt. Außer der Tuberkulose des Menschen gibt es bekanntlich noch andere Arten von Tuberkulose, welche von verschiedenen Tieren, Rindern, Vögeln und Fischen gewonnen werden. Obgleich alle diese Rassen der Tuberkelbacillen ihrem äußeren Ansehen nach nicht voneinander zu unterscheiden sind, so unterscheiden sie sich nichtsdestoweniger durch ihre pathogene Wirkung auf bestimmte Tiere.

Aus diesem Grunde war es für mich von ganz besonderem Interesse zu erfahren, wie sich die Raupen der Bienenmotte anderen Rassen der Tuberkelbacillen gegenüber verhalten würden. Zuerst versuchte ich meine Raupen mit Rindertuberkulose und Vogeltuberkulose zu infizieren, wobei ich mich sofort davon überzeugte, daß die Raupen diesen Bacillus ebensogut vertragen, wie denjenigen der menschlichen Tuberkulose. Die Bacillen werden sowohl innerhalb der Phagocyten als auch innerhalb der Kapseln mit derselben erstaunlichen Geschwindigkeit zerstört. Ich konnte die gleichen Formen in der Zerstörung der Bacillen und die gleiche Bildung schwarzen Pigmentes beobachten, wie bei Raupen, welche mit der menschlichen Tuberkulose infiziert waren.

In ganz anderer Weise verhalten sich die Raupen der Fischtuberkulose gegenüber.

Bald nach der Injektion von Fischtuberkulose erwiesen sich sämtliche Bacillen als innerhalb der Phagocyten liegend. Nach Verlauf einiger Stunden ist nicht nur keine Abnahme in der Zahl der Bacillen, sondern sogar eine Zunahme derselben zu bemerken. Nach 24 Stunden ist die Mehrzahl der Leukocyten dicht mit Bacillen angefüllt (s. Fig. 13). Diejenigen unter den Phagocyten, welche eine sehr große Anzahl von Bacillen enthalten, wiesen deutliche Anzeichen von Nekrose auf (siehe Fig. 13e). Ihre Dimensionen sind vergrößert, das Protoplasma färbt sich fast gar nicht und auch der Kern erscheint stark verändert und färbt sich schlecht.

Nach 2—3 Tagen ist das Bild der Zerstörung der Phagocyten noch auffallender. Viele Phagocyten sind derart mit Bacillen angefüllt, daß wegen dieser letzteren weder der Kern noch das Protoplasma zu sehen sind (s. Fig. 13 f).

Selbst in denjenigen Phagocyten, welche eine geringere Anzahl von Bacillen enthalten, wachsen letztere nach allen Seiten hin aus, ohne von seiten der Phagocyten auf irgend welchen Widerstand zu stoßen (s. Fig. 13g). Nicht selten sieht man innerhalb der Bacillen dunkle Punkte, welche an Sporen erinnern. Um dieselbe Zeit tritt eine ungeheure Menge von Bacillen außerhalb der Phagocyten in dem Blutplasma auf.

Die Raupen leiden augenscheinlich, bewegen sich nur mit Anstrengung von der Stelle und gehen endlich 3—4 Tage nach der Injektion ein.

Indem ich den Verlauf dieser Krankheit an Schnitten untersuchte, konnte ich keine Bildung von Kapseln beobachten. Statt dieser fand ich zwischen den Organen ungeheure Mengen von Tuberkelbacillen.

Nach einiger Zeit wiederholte ich diese Versuche mit einer anderen Kultur von Fischtuberkulose, und zwar im Alter von 2 Wochen, während die erste ein Alter von 1½ Monaten hatte. Die neue Kultur erwies sich nicht so giftig; die Raupen lebten 7—10 Tage.

Diesmal beobachtete ich im Blute die Bildung dunkelbrauner Vakuolen, welche auf eine Verdauung der Bacillen hinwiesen und ebenso kleiner dunkel gefärbter Knoten.

Nichtsdestoweniger ging jedoch die Zerstörung der Bacillen rascher vor sich und schließlich gingen die Raupen unter Auftreten der gleichen Krankheiterscheinungen, wie wir sie bei den ersten Raupen sahen, zu Grunde.

Durch Erwärmen abgetötete und sodann den Raupen injizierte Fischtuberkelbacillen werden ebenso rasch zerstört wie die Tuberkelbacillen des Menschen, wobei die gleichen Erscheinungen bei der Zerstörung der Bacillen, sowie die Bildung eines schwarzen Pigmentes zur Beobachtung kommen.

In allerletzter Zeit ist es mir gelungen, die Kultur einer acidoresistenten Bakterie — *Bacillus Rabinowitsch* — zu bekommen, welche bekanntlich in vielen ihrer Eigenschaften eine große Aehnlichkeit mit den echten Tuberkelbacillen besitzt.

Die Raupen verhielten sich diesen Bacillen gegenüber ebensowenig empfindlich wie in Bezug auf menschliche Tuberkelbacillen. Die Bacillen werden rasch von den Phagocyten aufgenommen und mit Hilfe dieser wie auch der Kapseln zerstört, wobei auch eine Bildung der für die echte Tuberkulose so charakteristischen dunklen Pigmente beobachtet werden kann.

Schlußfolgerung. Die Raupen der Bienenmotte sind in Bezug

auf die Tuberkulose der Menschen, Rinder und Vögel unzweifelhaft immun.

Diese Immunität wird durch unglaublich rasche Vernichtung der Tuberkelbacillen innerhalb der Phagocyten, im Inneren besonderer Kapseln und in gewissen Fällen auch in dem Blutplasma der Raupen erzielt.

Bereits eine Stunde nach der Injektion ungeheurer Dosen von Tuberkelbacillen erwiesen sich sämtliche Bacillen als innerhalb der Phagocyten oder besonderer Kapseln eingeschlossen, welche letztere durch die Tätigkeit der Leukocyten gebildet werden; dabei sind viele Bacillen bereits ganz zerstört. Die Zerstörung der Tuberkelbacillen wird stets von einem Anschwellen der Bacillen, sowie von einer Abscheidung dunkler Pigmente begleitet, welche die Bacillen sogar ohne künstliche Färbung sichtbar machen. Die pigmentierten Zerstörungsprodukte der Tuberkelbacillen werden in dem Blutplasma aufgelöst und schließlich von den Pericardialzellen aufgenommen.

Ganz anders verhalten sich die Raupen der Fischtuberkulose gegenüber. Injiziert man Bacillen der Fischtuberkulose in die Leibeshöhle der Raupe, so entsteht eine starke Phagocytose, allein die Phagocyten sind nicht im stande, diesen Bacillus zu zerstören, sondern gehen selbst zu Grunde. Es findet eine rasche Vermehrung der Bacillen statt und die Raupen kommen schließlich um.

Zum Schlusse möchte ich noch auf die Temperaturbedingungen hinweisen, unter welchen meine Versuche ausgeführt worden sind.

Die Raupen der Bienenmotte entwickeln sich nur bei hoher Temperatur; je höher die letztere steigt, desto lebhafter geht die Entwicklung vor sich.

Meine Versuche wurden zum Teil bei einer Temperatur von 30°, zum Teil bei einer solchen von 38° und 39° ausgeführt.

Hierbei muß bemerkt werden, daß die Raupen bei guter Ernährung von sich aus eine sehr hohe Temperatur entwickeln. Ich habe mich nicht selten davon überzeugen können, daß selbst die Gefäße, in welchen die Raupen leben, beim Anfassen derselben ziemlich stark erwärmt erscheinen.

Mehrmals maß ich die Temperatur der Raupenkörper, indem ich das Thermometer in große Mengen von Raupen versenkte. Das Thermometer zeigte 38° und darüber. In zwei Fällen stieg die auf diese Weise gemessene Temperatur auf über 40°.

Die in den Körper der Raupe eingeführten Tuberkelbacillen befinden sich demnach unter den allergünstigsten Temperaturbedingungen. Wenn diese Bacillen nichtsdestoweniger im Körper der Raupe zerstört werden, so ist dies einzig und allein der Wirkung jener aktiven Stoffe zuzuschreiben, welche sich in dem Körper der Raupe befinden.

Die vorliegende Arbeit wurde in dem Pasteurschen Institute in Paris begonnen und in dem Institut für Experimentalmedizin in St. Petersburg zu Ende geführt.

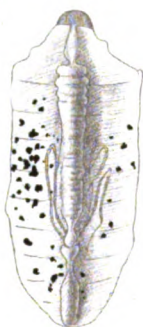
Es ist mir eine angenehme Pflicht, auch an dieser Stelle nachstehenden Personen meinen aufrichtigen Dank auszusprechen: Herrn Professor Metschnikoff für das Interesse, welches er meiner Arbeit gewidmet hat, Herrn Dr. Borel, in dessen Laboratorium meine Arbeit ausgeführt wurde und Frau N. O. Sieber-Schumova, für deren freundliche Anteilnahme und Hilfe.

ia  
ber  
sel  
von  
der  
ere  
ele  
rd  
m  
he  
ier  
ien  
en  
hle  
ien  
tst  
nd  
in  
ne  
n  
z  
st  
m  
at  
h  
t  
t  
t  
e

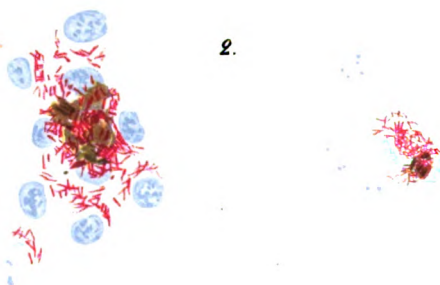
1.



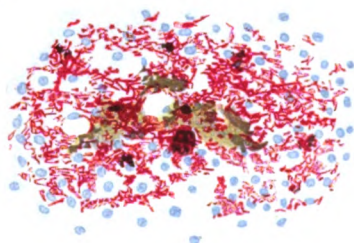
3.



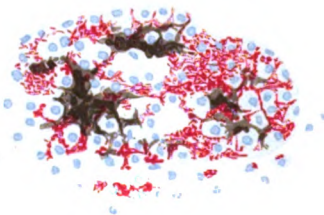
2.



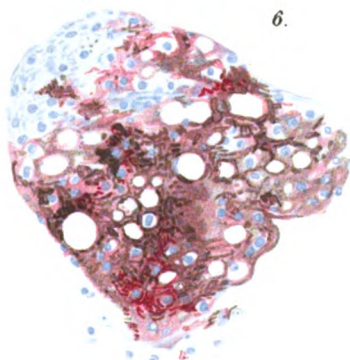
4.



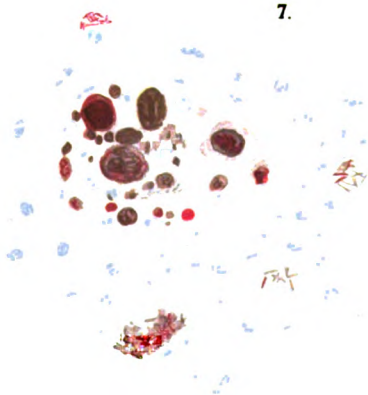
5.



6.

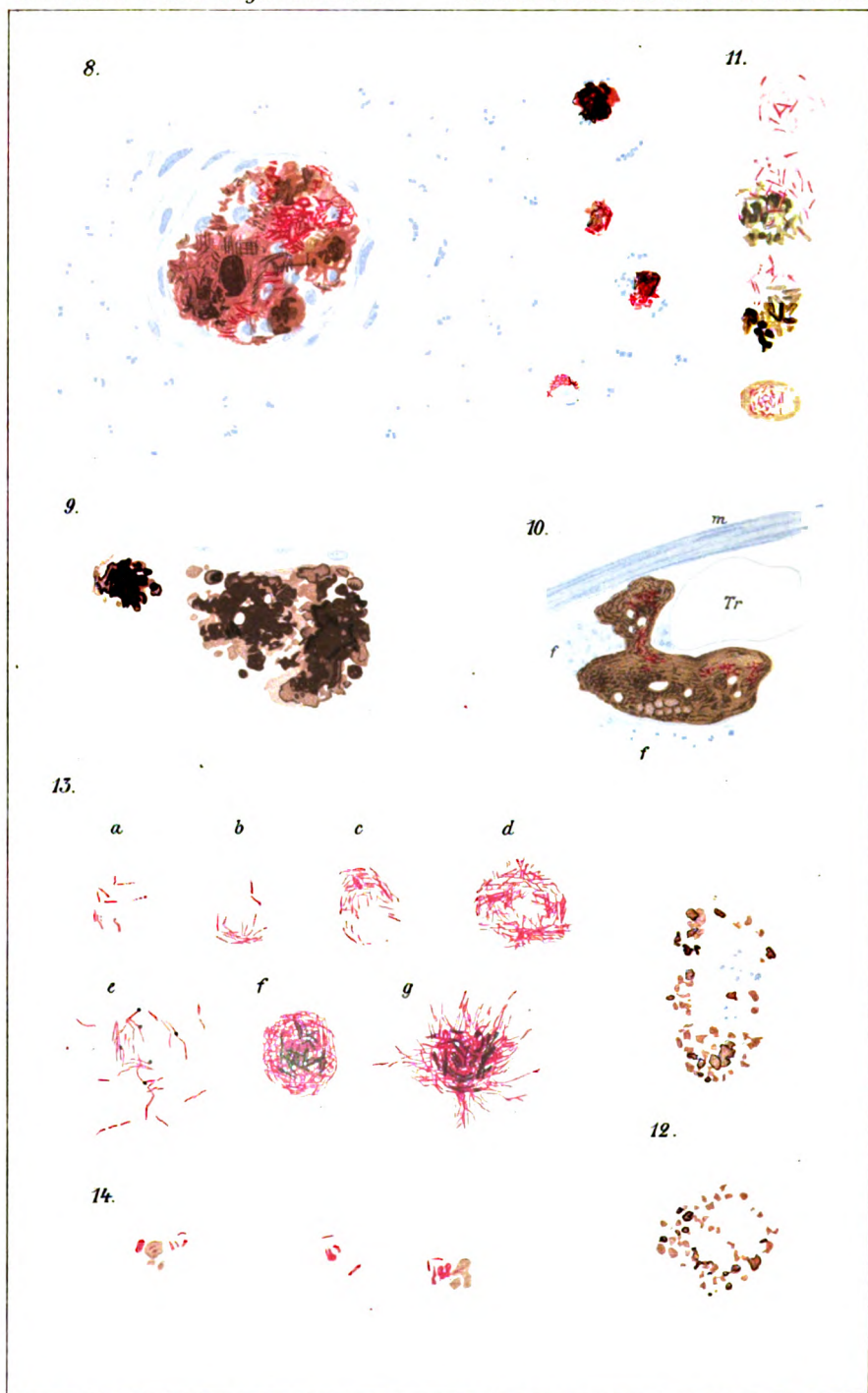


7.









### Erklärung der Tafeln.

Fig. 1. Blutkörperchen der Raupe von *Galleria melonella*, welche in der Zerstörung begriffene Tuberkelbacillen enthalten.

Fig. 2. Gruppen von Phagocyten, zwischen welchen Tuberkelbacillen eingeschlossen sind.

Fig. 3. Eine 24 Stunden nach der Injektion von Tuberkelbacillen geöffnete Raupe. In der Leibeshöhle sind überall zerstreut liegende Kapseln zu sehen, in welchen das schwarze Pigment von Tuberkelbacillen enthalten ist.

Fig. 4. Gruppe von Phagocyten und Tuberkelbacillen 45 Minuten nach erfolgter Injektion.

Fig. 5. Bildung eines Plasmodiums in der Leibeshöhle der Raupe, eine Stunde nach erfolgter Injektion.

Fig. 6. Plasmodium, welches sich 1 Stunde 15 Min. nach erfolgter Injektion in der Leibeshöhle gebildet hat.

Fig. 7. Kapsel, welche sich 2 Stunden nach erfolgter Injektion in der Leibeshöhle der Raupe gebildet hat. Im Zentrum der Kapsel befindet sich ein Plasmodium mit großen dunkelbraunen Vakuolen, welche die Zerfallsprodukte von Tuberkelbacillen enthalten.

Fig. 8. Große Kapsel in der Leibeshöhle der Raupe, 24 Stunden nach erfolgter Injektion.

Fig. 9. Kapsel, 8 Tage nach erfolgter Injektion.

Fig. 10. Dunkelbraune Anhäufungen von Zerfallsprodukten der Tuberkelbacillen in der Leibeshöhle der Raupe, 22 Stunden nach erfolgter Injektion. *M* Muskeln; *Tr* Tracheen; *f* Leukocyten.

Fig. 11. Verschiedene Stadien in der Zerstörung von Tuberkelbacillen. Strichpräparate.

Fig. 12. Pericardialzellen eines Falters, dessen Raupe mit Tuberkelbacillen injiziert wurde. Innerhalb der Zellen befindet sich Pigment von Tuberkelbacillen.

Fig. 13. Blutkörperchen einer mit Fischtuberkulose injizierten Raupe. *a*, *b* 1 Stunde nach erfolgter Injektion, *c*, *d* 24 Stunden nach erfolgter Injektion, *e*, *f*, *g* 3 Tage nach erfolgter Injektion.

Fig. 14. Blutkörperchen einer mit toten Fischtuberkelbacillen injizierten Raupe.

Nachdruck verboten.

## Ueber die pathogene Wirkung der in die Trachea geimpften Blastomyceten.

[Aus dem Hygienischen Institut der K. Universität Messina.]

Von Prof. Francesco Sanfelice.

Mit 1 Tafel.

(Fortsetzung.)

Orth machte die Beobachtung, daß bei chronischer Hydropsie der serösen Höhlen die Endothelialzellen anschwellen und durch Vermehrung zu knötchenartigen Verdickungen Anlaß geben. Steffen sah die Endothelzellen am Netz sich in große, protoplasmareiche, vielkernige Zellelemente und in Riesenzellen umwandeln, wodurch dieselbe Knötchenbildung durch Verdicken entstand. Bei langwierigen Entzündungen der serösen Häute nahm Borst aus polymorphen, oft mehrkörnigen Zellen bestehende Granulation wahr. Auch Marchand, Hamerl, v. Büngner, Graser, Proloff, Cornil und Ranvier bestätigen, daß in chronischen Entzündungsfällen die Endothelzellen der serösen Häute zur Bildung des Granulationsgewebes mitwirkten. Borst bemerkte bei spezifischen, namentlich tuberkulösen Entzündungen der serösen Häute Neubildungsprozesse am Endothel und wohnte dessen

Umwandlung in große und kleine Epitheloid- und Riesenzellen bei, die sich lebhaft am Entstehen von Tuberkelnöthchen beteiligten.

Daß bei Entzündungsprozessen die Verwandlung der Endothele in Bindegewebe stattfindet, wird allgemein angenommen. So konstatierten Cornil und Chaput bei Suturaexperimenten an den serösen Häuten und auf verschiedene Art an diesen künstlich hervorgebrachten Entzündungen, wie aus den angeschwollenen und durch Karyokinesis ausfasernden Endotheliumzellen ein netzartiges Bindegewebe entstand. Paltauf machte die Bemerkung, daß bei den Vorgängen, welche die Neubildung des Endothels begleiten, die Endothelialzellen die Eigenschaft gewinnen, intercelluläre Substanz zu bilden. Auch Lubarsch gibt die Mitwirkung der Endothelzellen der serösen Häute bei der Bildung jungen Konnektivs zu.

Werden die Endothelzellen der Blut- und Lymphgefäße bei akuten Entzündungen in Mitleidenschaft gezogen, so schwellen sie an, büßen ihre flache Form ein und verwandeln sich in Protoplasmazellen mit blasenförmigem Kern. Bei akuter Nephritis nahm Nauwerck an den Endothelzellen der Blutkapillaren starkes Anschwellen, Zellkernvermehrung und Abschuppen wahr.

Von großem Belang ist eine Bemerkung, die Borst über eine bei langwierigen Entzündungen beobachtete Erscheinung macht, nämlich das Auftreten polymorpher Epitheloidzellen, die reichlich aus dem Lymphgefäßepithel auswuchern, so daß sie Aehnlichkeit mit den Endotheliomen bekamen.

Was vom Endothel der Lymphgefäße gesagt wurde, gilt auch für die Zellkörper, welche die lymphatischen Räume und interfascikulären Spalten des Bindegewebes auskleiden. Marchand machte die Wahrnehmung, daß die Endothelialzellen der Bindegewebsträume bei Entzündungsfällen sich ganz gleich verhalten wie diejenigen der serösen Häute.

Alles zusammengefaßt gelangen wir zu dem Schlusse, daß bei akuten wie bei chronischen Entzündungen die Endothelzellen, sowohl an der serösen Membran als an den Blutgefäßen, nicht nur fortschreitenden Metamorphosen ausgesetzt, sondern an der Formation des Granulationsgewebes und dem daraus entstehenden Konnektiv geradezu beteiligt sind. Sämtliche Umgestaltungen, welche die Zellen des Epithels während den Entzündungsphasen durchmachen, treten auch in den hierdurch hervorgerufenen Tumoren auf. Daher treffen wir in den Endotheliomen dieselben großen und kleinen Granulationszellen, dieselben polymorphen, protoplasmareichen, mit blasenförmigem Kern versehenen Epitheloidzellen, dieselben vielkernigen Protoplasmamassen, die gleichen Riesenzellen, wie man sie bei den Entzündungsprozessen auftreten sieht. Finden sich aber in den Entzündungsneubildungen des Endothels die gleichen morphologischen Elemente, wie man sie in den Endotheliomen sieht, und treten, laut den Beobachtungen, die Borst und Orth gemacht, bei langwierigen Entzündungsfällen hier und da Erscheinungen von Proliferation und Endothelzellenbau auf, die förmlich einem typischen Endotheliom gleich sehen und mit Tumoren verwechselt werden können, so ist es unmöglich, an der Hand morphologischen Studiums der Zellelemente, aus denen das junge Gebilde besteht, die Frage der Unterscheidungsmerkmale zu erledigen. Der klinische Verlauf gibt hier den Ausschlag. Nun kann ich zwar mit Bestimmtheit nicht behaupten, daß die in den Lungen von Meerschweinchen und Kaninchen entstandenen

Neubildungen in der Tat Tumoren und mit denen der höheren Säugetiere vergleichbar sind, aber ebensowenig darf gezeugnet werden, daß das entstandene junge Gewebe sich mehr den neoplastischen als den Geweben entzündlicher Neubildungen nähert und zwar darum, weil nach Beginn der Zellwucherung kein Regreß eintritt und die Tiere einem sicheren Tod verfallen sind. Der progressive Charakter, dem wir bei echten Tumoren begegnen, offenbart sich auch an den Neubildungen der Blastomyceten.

Nach Obengesagtem gehe ich mit Sternberg<sup>1)</sup> nicht einig, der den Entwicklungsgang durch Impfen pathogener Hefen an Hunden erzeugten Veränderungen — und speziell die interessanten Nierenläsionen — verfolgt hat. Ueber letztere schreibt Sternberg:

„Was die Deutung dieser Veränderungen in den Nieren der Hunde anlangt, so unterliegt dieselbe allerdings größeren Schwierigkeiten als die der bisher beschriebenen, durch die Sanfeliceschen Hefen bewirkten Krankheitsprodukte.

Untersucht man nämlich diese Veränderungen in vorgeschrittenem Zustand, z. B. bei dem 2 Monate nach der Injektion verendeten Tier, so fallen sofort jene Herde ins Auge, die aus großen, epithelähnlichen Zellen bestehen und hierdurch stellenweise das Bild einer echten Tumorentwicklung darbieten können. Verfolgt man aber die Veränderungen in ihrer Entwicklung, so läßt sich hieraus ein sicheres Urteil über ihre Natur gewinnen. In den ersten Tagen nach der Injektion zeigen sich weder makroskopisch noch mikroskopisch irgend welche Veränderungen. Nach Ablauf einer Woche sieht man zweierlei Prozesse in den Nieren. Einerseits finden sich allenthalben reichliche Rundzellenanhäufungen im interstitiellen Gewebe neben typischen exsudativen Vorgängen in den Glomerulis. Daneben finden sich aber bereits zu dieser Zeit spärliche kleine Knötchen, die aus einem jungen Bindegewebe bestehen, in dessen Maschen sich vereinzelt jene großen epithelähnlichen Zellen finden, die an anderen Stellen auch schon in dieser Zeit, namentlich aber im späteren Stadium größere Herde fast ausschließlich zusammensetzen; sowohl innerhalb dieser Herde als auch im interstitiellen Gewebe zwischen Harnkanälchen finden sich reichliche, regelmäßige Karyokinesen in den Bindegewebszellen.“ Aus dem allen zieht Verfasser den Schluß, es handle sich um ein „Granulationsgewebe“.

Die Anhäufung von Rundzellen im interstitiellen Gewebe, womit der Prozeß beginnt, ist kein endgültiges Beweismittel zur Bekämpfung der neoplastischen Natur. Ribbert besteht darauf, „daß eine Entzündung durch verschiedene Ursachen zu stande kommen kann, daß durch diese einzelne Zellen losgelöst werden und nun in die Lage kommen, die ihnen innewohnende Proliferationsfähigkeit zu äußern. Die Ursache des Carcinoms ist also für Ribbert die entzündliche Proliferation, die die Zelle aus ihrem Zusammenhang löst. Die Ursache des Wachstums dieser Zelle ist der aufgehobene Widerstand der übrigen Gewebe durch die Entzündung.“ Auch die Behauptung, es gebe Carcinome, wo kleinzellige Infiltration mangelt, ist kein guter Grund gegen Ribberts Theorie, da jene gleich von Anfang an stattgefunden und dann sistiert haben konnte, als der Tumor ein gewisses Entwicklungsstadium erreichte.

1) Experimentelle Untersuchungen über pathogene Hefen. (Beiträge zur pathologischen Anatomie und allgemeinen Pathologie. 1902.)

Die großen Bezirke epithelähnlicher Zellen sind es, die in den Nieren des Hundes das junge Gewebe bilden, sie dürfen nicht mit den seltenen Epitheloidzellen verwechselt werden, die möglicherweise durch Verwandlung einiger kleiner Infiltrationszellen entstanden sind. Noch mehr, wenn es sich um Granulationsgewebe handelte, so mußten die epithelartigen Zellen als die ersten auf dem Platze erscheinen, um sich später in Riesenzellen zu verwandeln, und hätten nicht erst „in späterem Stadium“ — wie der Verfasser selbst bemerkte — neue Gestalt angenommen.

Sternberg schreibt des weiteren: „Dabei muß auch hier nochmals darauf hingewiesen werden, daß dieses zahlreiche, großzellige Gewebe stets nur herdweise auftritt, niemals größere Bezirke einnimmt, so daß in einem und demselben Präparate neben vollkommen normalem oder entzündliche Veränderungen aufweisendem Gewebe die beschriebenen streifen- und knötchenförmigen oder ganz unregelmäßig begrenzten Bildungen zur Beobachtung kommen. Dies gilt insbesondere für den Befund in den weiter vorgeschrittenen Fällen, in welchen jene Entwicklungsstadien dieses Gewebes nicht mehr zu sehen sind — ganz abgesehen davon, daß die volle Identität der Zellformen mit den früher beschriebenen, sowie mehrfache Analogieen im Aufbau des Gewebes den Schluß zulassen, daß es sich auch hier um ein Granulationsgewebe, also um chronisch-entzündliche Veränderung handelt. — Wenn auch die an den Harnkanälchen der Niere beobachteten Verdrängungserscheinungen eine gewisse Aehnlichkeit mit dem Wachstum echter Tumoren besitzen, so ist hervorzuheben, daß diese Veränderung niemals bedeutend ist und in diesem Maße auch sonst bei Entwicklung eines Granulationsgewebes nachgewiesen werden kann.“

Auch dieses letzte Argument, das gegen die neoplastische Natur der von endovenöser Injektion pathogener Hefen erregten Nierenveränderungen am Hunde ins Feld geführt wird, hält nicht stand, aus dem einfachen Grunde, weil künstliche Infektion nicht mit der spontan auftretenden verglichen werden kann. Die Umstände, welche die Entwicklung eines Gewebetumoren der Niere veranlassen, sind unbekannt und sicherlich hat noch niemand dem ersten Erscheinen einer solchen Geschwulst von Anfang an beiwohnen können. Gibt es der Ausgangspunkte mehrere oder ist nur einer? Nur soviel wissen wir mit Bestimmtheit, daß bei der experimentellen endovenösen Infektion eine Menge Pilze eingeführt werden, welche, die Glomeruliwindungen passierend, in die Bindegewebsräume zwischen den Harnkanälchen gelangen und jeder auf eigene Rechnung das Zentrum einer Neubildung abgibt. Das häufige Vorkommen aus epithelähnlichen Zellen bestehender Neubildungsherde darf uns daher nicht wundern; denn ebenso ansehnlich an Zahl sind die Parasiten. Ganz so verhält es sich mit der bescheidenen Ausdehnung der Herde; wie soll es jeder einzelne zum Volumen eines echten Tumors bringen, wenn das Versuchstier den vielfachen, gleichzeitig in allen Organen erlittenen Veränderungen schon zuvor erliegt? Besteht aber zwischen den Wucherungen epithelartiger Zellen in den Lungen der Meerschweinchen und Kaninchen, die man auch nach endovenösem Einimpfen pathogener Hefen in den Organen der daran zu Grunde gegangenen Hunde trifft, und den gewöhnlichen Granulomen ein großer Abstand, so nähern sie sich dafür denjenigen, welche einige einfache Entzündungserscheinungen begleiten, wo selbst ein erfahrener Beobachter sie für echte Neubildungsvorgänge ansehen kann.

Mit Bezug auf den Gegenstand folge hier eine Beobachtung, die Hansemann, eine anerkannte Autorität im Gebiet der malignen Tumoren, seiner Abhandlung über die Diagnostik derselben einverleibt hat: „Besondere Schwierigkeiten“ — so lautet die Stelle — „entstehen dann, wenn die Endothelien zu besonderen Wucherungen geführt haben. Es geschieht dies gar nicht so selten, daß bei einfachen Entzündungen an verschiedenen Stellen des Körpers diese Zellen sich so vermehren, daß das mikroskopische Bild einen deutlich alveolären Bau darstellt. Außer an vielen anderen Stellen findet man das besonders häufig an der Pleura bei dicker Schwartenbildung. Ob hier diese Zellhaufen von den Epithelien der Pleura oder von den Lymphendothelien stammen, halte ich noch nicht für ausgemacht; sie haben aber wiederholt Veranlassung gegeben, diese Dinge als Tumoren aufzufassen. Ich glaube, daß das irrtümlich ist, und daß es sich hier in der Tat nur um entzündliche Verdickungen handelt. In ähnlicher Weise waren wahrscheinlich die beiden folgenden Tumoren entstanden. In beiden war ein Trauma vorangegangen, das eine Mal hatte ein Stoß mit einem Balken gegen die Wange stattgefunden, das andere Mal war ein rostiger Nagel in die Hand eingedrungen und hatte hier einige Zeit gelegen. Im Laufe der nächsten Wochen entwickelte sich je ein kleiner Tumor, die beide große Aehnlichkeit miteinander hatten, sie bestanden aus großen, protoplasmareichen Spindel- und Rundzellen mit zarter Zwischensubstanz, spärlichem Stroma und sehr reichlichem Pigment. In dem Wangentumor lag das Pigment überall zwischen den Zellen und stammte daher von der durch den Stoß verursachten Blutung. In dem anderen Fall aber hatten die Zellen das Pigment aufgenommen und es war so eine vollkommene Aehnlichkeit mit einem Melanosarkom entstanden. Indessen hatte das Pigment eine Eigenschaft, die an den Melanosarkomen nicht beobachtet wird. Es gab eine intensive Eisenreaktion und deshalb mußte man annehmen, daß das Pigment vom Rost des Nagels stammte und von den Zellen aufgenommen war.“

Auch die von endotracheal eingepflichten pathogenen Hefen in den Lungen der Meerschweinchen und Kaninchen erzeugte Epithelwucherung darf man jener Kategorie von Neubildungen zuteilen, die als Bindeglied zwischen entzündlichen und eigentlichen Neoplasien zu betrachten sind. Hansemann schreibt hierüber: „Aber nicht nur Bindegewebswucherungen können echte Tumoren vortäuschen, sondern auch Entzündungen, die mit Epithelwucherung einhergehen. Friedländer hat diesen Dingen eine sehr bemerkenswerte Abhandlung gewidmet und dieses Auswachsen der Epithelien als atypische Wucherung bezeichnet. Man findet sie ganz besonders häufig bei den verschiedenen chronischen Entzündungsprozessen der Epidermis, die mit Wucherungen auch des Bindegewebes und Bildung von Granulationsgewebe einhergehen. An den Rändern chronischer Phlegmonen, alter Geschwüre, beim Lupus etc. wachsen die Epithelleisten tief in das Granulationsgewebe hinein, verästeln sich in der verschiedensten Weise, bilden am Ende Kolben und Epithelperlen. Sie enthalten zahlreiche Mitosen, oft auch pathologische Formen. So kann in manchen Fällen die Aehnlichkeit mit Carcinom so groß werden, daß eine Verwechselung sehr naheliegt. Ich habe Fälle gesehen, wo in der groben Struktur der Wucherungen ein Unterschied von wirklichen Cancroiden nicht mehr möglich war und

wo der klinische Verlauf die Natur derselben offenbarte. In anderen aber ließ sich die Diagnose an der Hand der Kenntnisse der Anaplasie ermöglichen. Ich möchte bei dieser Gelegenheit noch einmal ganz besonders auf ähnliche Verhältnisse im Larynx und an der Portio vaginalis uteri hinweisen. Im Larynx finden sich besonders bei Tuberkulose, seltner bei Syphilis, so erhebliche Epidermiswucherungen, daß die vollständige Struktur des Cancroids zu stande kommt. Hat man den ganzen Larynx zur Verfügung, so wird man stets Tuberkel irgendwo finden, die die Diagnose ermöglichen. Handelt es sich aber bei der Untersuchung nur um eine Probeexzision, so wird die Diagnose sehr schwierig oder sogar unmöglich. Auch in der Vagina habe ich solche hypertrophierende Tuberkulose beobachtet, die einem Carcinom sehr ähnlich sah. An der Portio entsteht dieselbe Schwierigkeit bei den sogenannten Erosionen. Diese bestehen bekanntlich nicht aus Wundflächen, wie man früher annahm, sondern aus Inseln von Cylinderepithel, das sich vom Collum aus zwischen das normale Plattenepithel vorgeschoben hat. Ganz besonders häufig kommen im Gesicht entzündliche Wucherungen vor, die von den Talgfollikeln und von der Epidermis ausgehen und die nicht nur makroskopisch, sondern auch mikroskopisch Carcinomen sehr ähnlich sehen, aber unter ganz einfachen Mitteln heilen. Es ist sehr wahrscheinlich, daß alle die Fälle von angeblich durch innere Mittel geheilten Cancroiden solche atypische Epithelwucherungen sind. Bei der leicht möglichen Verwechslung und dem verständlichen Enthusiasmus, den solche Erfolge erregen, ist der Irrtum wohl entschuldbar. Aber es ist deshalb um so wichtiger, daß man weiß, daß solche Dinge vorkommen, die die größte Aehnlichkeit mit Carcinomen haben und doch keine sind.“ Wie aus obigem ersichtlich ist, kann das Vorkommen atypischer Bindegewebswucherungen durchaus nicht bezweifelt werden, es sind dies keine Sarkome, zeigen aber den gleichen histologischen Bau; ebenso gibt es atypische Epithelienwucherungen, die keine Carcinome sind, aber mit solchen verwechselt werden können, so groß ist die Identität der histologischen Struktur. Fehlt es an klinischem und therapeutischem Kriterium, so ist nichts leichter möglich, als daß man die Erscheinungen maligne Tumoren tauft. Der ganze Unterschied besteht somit nur in der Persistenz der sarkomatösen und carcinoma-tösen, und in der Hinfälligkeit der entzündlichen Elemente.

(Schluß folgt.)

---

*Nachdruck verboten.*

## Notiz über den Dysenteriebacillus und das Dysenterietoxin.

[Aus dem bakteriologischen Institute in Kiew, Abteilung von  
Prof. W. Wysokowicz.]

Von Dr. B. Klein.

Nachdem Shiga in Japan und Kruse in Deutschland den Dysenteriebacillus entdeckt hatten, haben verschiedene Forscher (Pfuhl, v. Drigalski, Conradi, Rosenthal etc.) das konstante Vorkommen desselben bei der epidemischen Ruhr konstatieren können. In Rußland gelang es Rosenthal<sup>1)</sup> im Jahre 1902 in Moskau und Nieporoszni<sup>2)</sup> im Jahre 1903 in Odessa, den Dysenteriebacillus bei zahlreichen Fällen der epidemischen Ruhr zu züchten. Im Jahre 1903—1904 hatten wir auch die Möglichkeit, den Dysenteriebacillus in den Dejektionen von Ruhrkranken in Südrußland (in Kiew und im Gouvernement Wolyn) nachzuweisen<sup>3)</sup>. Dabei wurden 3 Ruhrstämme gezüchtet, deren Identität mit dem Shiga-Kruseschen Bacillus aus den folgenden Eigenschaften kargestellt ist: Keine Eigenbewegung, Geißelfärbung resultatlos, schwache Trübung der Bouillon, schwacher grauer Belag auf Kartoffel (wie bei *B. typhi*), blaue Kolonien auf Drigalskischem Nährboden, keine Indolreaktion, keine Gerinnung von Milch, Agglutination mit spezifischem Ruhrserum 1:300—500. Eine von diesen Kulturen zeigte eine ziemlich große Virulenz, nämlich  $\frac{1}{50}$ — $\frac{1}{100}$  von einer Agarkultur tötete bei subkutaner Impfung ein erwachsenes Kaninchen in 3—4 Tagen.

Auf die Anregung von Herrn Prof. W. Wysokowicz unternahmen wir die Immunisierung von Pferden gegen den Dysenteriebacillus; die dabei erhaltenen Resultate werden von uns in einer besonderen Mitteilung beschrieben werden. Für die Immunisierung erhielten wir kräftige Toxine von der oben erwähnten Kultur nach der Methode von Gabritschewsky-Rosenthal<sup>4)</sup>. Wir konnten dabei immer die Angaben von Rosenthal und Todd<sup>5)</sup> bestätigen, welchen es in bakterienfreien Filtraten 21—30 Tage alter Dysenteriekulturen in Martinscher Bouillon stark toxische Wirkung nachzuweisen gelang. Nach 3-wöchentlichem Stehen im Brutschrank bei 37° wurden unsere Kulturen auf Martinscher Bouillon durch Chamberlands Kerze filtriert und dabei erhielten wir immer Toxine, deren minimale tödliche Dosis für erwachsene Kaninchen bei intravenöser Injektion 0,2—0,1 ccm betrug.

In dieser Notiz wollen wir 2 Fälle beschreiben, in welchen starke Toxine viel früher, nämlich nach 11—12 Tagen nachweisbar waren, fast ebenso wie bei dem Diphtherietoxin. 21. Nov. 1905 wurde der Dysen-

1) Rosenthal, Zur Aetiologie der Dysenterie. (Dtsche med. Wochenschr. 1903. No. 6.) — Aetiologie und Serumtherapie der Dysenterie. Moskau 1904. [Russisch.]

2) S. bei Rosenthal, Aetiologie etc. p. 27.

3) Klein, Ein Versuch der praktischen Verwendung des Ruhrserums. (Therapie. 1904. No. 4.) [Russisch.]

4) Rosenthal, Das Dysenterietoxin auf natürlichem Wege gewonnen. (Dtsche med. Wochenschr. 1904. No. 7.) — Aetiologie etc. — Gabritschewsky, Ueber die Technik der Immunisierung von Pferden gegen Dysenterie. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXIV. 1904.)

5) Todd, Brit. med. Journ. 1903. p. 1456. Zit. nach Rosenthal, Aetiologie etc. p. 70.



teriebacillus in eine Reihe von Kolben mit Martinscher Bouillon verimpft. Nach 2—3 Tagen war in mehreren Kolben eine Membranbildung zu bemerken. Die Untersuchung zeigte, daß die Membranen ausschließlich aus Dysenteriebacillen bestanden<sup>1)</sup>. Nach 7 Tagen wurde eine kleine Menge Bouillonkultur durch Chamberlands Kerze filtriert und 0,5 ccm vom Filtrat einem Kaninchen in die Ohrvene eingespritzt; das Kaninchen ging nach 18 Stunden zu Grunde. Nach 12 Tagen wurde eine neue Menge Bouillonkultur abfiltriert und 0,1 ccm des Filtrats intravenös einem Kaninchen von 1340 g eingespritzt. Das Kaninchen ging nach 30 Stunden zu Grunde (unter den Erscheinungen von hochgradiger Abmagerung und Lähmungen erst der hinteren, dann der vorderen Extremitäten).

In einem anderen Falle haben wir eine so rasche Toxinbildung bemerkt, daß schon nach 3-tägigem Stehen der Bouillonkultur im Brutschrank 0,5 ccm des Filtrats genügte, um ein Kaninchen bei intravenöser Impfung in 3 Tagen zu töten. Nach 11-tägigem Stehen im Brutschrank wurden die Bouillonkulturen abfiltriert und die minimale tödliche Dosis des Toxins für Kaninchen bei intravenöser Injektion betrug 0,1 ccm.

In der folgenden Tabelle ist die oben beschriebene Toxinbildung mit der gewöhnlichen zusammengestellt.

	Die minimale tödliche Dosis des Toxins	
	Gewöhnlich <sup>2)</sup>	In unseren 2 Fällen
Nach 3 Tagen	—	0,5 ccm
„ 5 „	10 ccm	
„ 10—12 „	2,0 „	0,1 „

Aus den oben beschriebenen Beobachtungen kommen diejenigen Schlußfolgerungen, daß

- 1) die Möglichkeit einer Membranbildung in Bouillonkulturen (in schwach alkalischer Martinscher Bouillon) für den Dysenteriebacillus nicht ausgeschlossen ist,
- 2) der Dysenteriebacillus sogar nach 11—12-tägigem Stehen der Bouillonkulturen bei 37° (in Martinscher Bouillon) starke Toxine zu bilden im stande ist.

1) Trotz den allgemeinen Angaben (s. z. B. bei Lentz in Wassermann und Kolles Handb. d. pathogenen Mikroorganismen. Bd. II. p. 309—333) haben wir, obgleich nicht oft, eine Membranbildung in Bouillonkulturen vom Dysenteriebacillus auf schwach alkalischer Martinscher Bouillon bemerken können.

2) Rosenthal, Actiologie etc. p. 66.

*Nachdruck verboten.*

## Zur Kenntnis des Vaccineerreger.

[Aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin.  
(Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Gaffky. Abteilvorsteher:  
Prof. Dr. Frosch).]

Von Dr. **P. Mühlens** und Dr. phil. **M. Hartmann**  
Marinestabsarzt Privatdozent.

Mit 1 Tafel.

(Fortsetzung.)

Zu dem von v. Wasielewski angeführten positiven Impfresultat mit Nierensaft von einem korneal infizierten Kaninchen ist zu bemerken, daß das Resultat nur einmal bei Impfung am 5. Tage gelang, daß dagegen alle anderen Versuche mit Organ-säften zu verschiedenen Zeiten nach der Impfung negativ ausfielen. Siegel dagegen nimmt bekanntlich an, daß der Erreger schon nach 12 Stunden regelmäßig im Blut und in den Organen zu finden sei. Da nun von der infizierten Kaninchenhornhaut schon am 1. Tage positive Impfresultate mit Sicherheit erzielt werden können, so ist anzunehmen, daß der Vaccineerreger in der Hornhaut nicht etwa einen komplizierten Entwicklungszyklus durchmacht, bei dem nur gewisse Stadien infektiösfähig wären. Es kann daher zur eventuellen Erklärung eines negativen Ausfalls der Impfungen nicht ohne weiteres die Annahme eines derartigen Entwicklungszyklus geltend gemacht werden. Einen solchen im peripheren Blut anzunehmen, liegt unseres Erachtens auch kein Grund vor. Die auffallende Tatsache, daß scheinbar nur ganz vereinzelt das Virus in den Kaninchenkreislauf gelangt, daß aber in der Regel durch Hornhautimpfung nur ein lokaler Prozeß mit lokaler Immunität zu stande kommt, ist schwer zu erklären. Man könnte denken, daß das Kaninchen für den Vaccineerreger so wenig empfänglich sei, daß es nur in den seltensten Fällen, bei sehr virulenter Lymphe, vielleicht auch nur bei ganz bestimmten Rassen zu einem Kreisen des Virus kommt, während es sich sonst lediglich um lokale Infektionsvorgänge handelt.

Calmette und Guérin (8) ist es gelungen, bei besonders großen, (3 kg schweren), wohlgenährten Kaninchen durch Einreiben von sehr virulenter Lymphe in die rasierte Rückenhaut typische Eruptionen nach 48—120 Stunden (Höhepunkt) zu erzeugen. Auch sahen sie, wenn sie nach intravenöser Injektion der Lymphe in den ersten 24 Stunden rasierten, am 3. Tage an den rasierten Stellen Eruptionen entstehen, bei späterem Rasieren dagegen nicht. Daraus schließen sie, daß nach intravenöser Injektion die virulenten Elemente in den ersten 24 Stunden im Blut bleiben und die Tendenz haben, sich in der Haut zu lokalisieren. Blut, Leber, Niere, Milz, Lunge und Knochenmark zeigten nach intravenöser Injektion nach 24, 48, 72, 96 und 120 Stunden aber keine Virulenz.

Wir haben 4mal versucht, bei 3 kg schweren Kaninchen Vaccinepusteln zu erzeugen, 2mal durch Rasieren nach intravenöser Injektion und 2mal durch kutane Einreibungen. Von diesen Versuchen war keiner positiv. Möglich, daß die Lymphe, die im übrigen gute Resultate bei Hornhautimpfungen gab, für diese Zwecke

nicht virulent genug war, möglich aber auch, daß die uns zur Verfügung stehende Kaninchenrasse sich nicht eignete. — Auch de Waele und Sugg (50) erhielten bei den Rasierversuchen keine positiven Resultate. Sie stellten folgenden Satz auf: „Die Empfänglichkeit des Kaninchens für Vaccine ist großen individuellen Verschiedenheiten unterworfen. Das Kaninchen widersteht großen Dosen des Pockengiftes und reagiert nicht durch Eruption, aber es geht schließlich an Kachexie zu Grunde.“

Bezüglich früherer Experimente über das Kreisen des Pockenvirus im Körper, sei noch auf die von v. Wasielewski (52) aus der Literatur angeführten hingewiesen: Monti erhielt (1894) bei Impfungen von Herzblut, Nieren, Leber, Milz und Gehirn keine positiven Impffresultate; diese waren aber regelmäßig positiv bei Verimpfung von Haut, Pharynx- und Larynx-Schleimhaut. — Magrath und Brinckerhoff untersuchten auch die Ansteckungsfähigkeit des Blutes Variolakancker in 5 Fällen am 2. bis 12. Tage und 1mal bei Purpura variolosa; nur in letzterem Falle konnte positive Hornhautimpfung erzielt werden. L. Pfeiffer (1894) hatte mit Blut von fiebernden Variolakancken, von geimpften Kindern (7. Tag), von Kälbern (4. Tag) auf größeren Kontaktflächen typische Pusteln erzielen können. Er hatte anscheinend größere Blutmengen benutzt. Im ersten Bericht über die Prüfung der Impfstofffrage sagt endlich Frosch (1896), daß die Vaccinekeime beim Kalb innerhalb einer bestimmten Zeit im Organismus kreisen, und zwar immerhin in solchen Mengen, daß mit jedem Organ Impfpusteln erzeugt werden können. Dauer des Kreisens 3—4 Wochen. — v. Wasielewski selbst kommt zu folgender Ansicht: Die bisherigen Argumente für den positiven Nachweis des Kreisens des Pockenerregers im Blut sind durchaus unsicher und können nur auf eine verhältnismäßig späte Ueberwanderung (für Vaccine 4 Tage beim Kalb, 7 Tage beim Kind, für Variola 8—13 Tage) bezogen werden. „Um so überraschender die Befunde Siegels, der den Erreger bei Vaccine im Kaninchenkörper schon nach 12 Stunden hat und darin nichts Ungewöhnliches sieht, das einer besonderen Aufklärung bedürfe“.

### **Morphologische Untersuchungen.**

#### **I. Die Gebilde im Blut und den inneren Organen der Kaninchen.**

In seinen letzten Arbeiten dringt Siegel (46, 47) hauptsächlich auf die Untersuchung von Blut, und zwar speziell lebender ungefärbter Präparate, da „die Betrachtung des lebenden Protozoons die sicherste Anschauung ergibt, viel sicherer als etwa die Besichtigung der gefärbten Parasiten“. Da die Blutpräparate reiner sind, so ist es nach ihm leichter, die Parasiten von Zerfallsprodukten zu unterscheiden, die in Nieren und Lebersaft ja sehr reichlich sind. Wir wollen uns daher bei unserer Darstellung gleichfalls in erster Linie auf die Blutbefunde beziehen, auch der lebenden Gebilde. Nur gelegentlich sollen auch Präparate aus Niere oder Leber herangezogen werden.

Für uns lautete die Fragestellung: Sind die von Siegel beschriebenen Gebilde Parasiten, speziell Protozoen und sind sie spezifisch für die Vaccine?

In seinen letzten Mitteilungen — und auf diese letzte Fassung seiner Befunde können wir uns beschränken — führt Siegel als Unter-

scheidungsmerkmale seiner Parasiten von Zerfallsprodukten und normalen Blutbestandteilen sowie als Beweise ihrer Protozoennatur an: Aktive Beweglichkeit, event. Geißelbeobachtung, Größe von 3  $\mu$ , stärkste Lichtbrechung, Bau aus Plasma (heller Saum) und Kernen, sowie deutliche Teilung der Kerne. Diese verschiedenen Punkte wollen wir nun der Reihe nach auf ihre Gültigkeit und Beweiskraft prüfen.

1) Die **aktive Beweglichkeit** ist natürlich eine Eigenschaft, die für die Entscheidung der Parasitennatur von der größten Wichtigkeit ist. Eine anschauliche Schilderung der Bewegungsart der Körperchen hat F. E. Schulze (34) gegeben. Er schilderte sie als stoß- und sprungweise, sie gleicht dem Herumschleudern kleiner Flagellaten. Diese Beschreibung trifft vollkommen zu, und man denkt unwillkürlich an Flagellaten, wenn man zum ersten Male diese Bewegung der Gebilde sieht. Und doch kann aus diesem Bewegungsmodus nicht ohne weiteres auf aktive Lokomotion und noch weniger auf Flagellatennatur der Gebilde geschlossen werden. Denn auch von normalen Blutbestandteilen, den sogenannten Hämokonien, ist die gleiche Bewegungsart bekannt und ist bei denselben von H. F. Müller (30) und Arnold (3, 4) zutreffend beschrieben worden. Siegel wies nun neuerdings selbst auf die Uebereinstimmung der Bewegung seiner Parasiten mit der der Hämokonien hin, doch sollen sich die letzteren durch ihre Größe und ihren Bau von ihnen unterscheiden lassen, worauf wir später noch zu sprechen kommen. Aber selbst wenn wir von den Hämokonien absehen, so findet man vielfach im frischen Blutpräparat normaler Kaninchen stark lichtbrechende Gebilde von gleicher Größe, wie die von Siegel beschriebenen Parasiten mit derselben Bewegung; ja auch bei den schwach lichtbrechenden, deren Herkunft von Erythrocyten wohl zweifellos erscheint, kann dieselbe beobachtet werden, wenn sie auch in der Regel anfangs noch nicht so heftig ist. Auch von diesen Gebilden hat schon Arnold in zutreffender Weise die Bewegungen geschildert und ebenso Kollmann (25), der darauf hingewiesen hat, wie oft schon Forscher durch diese Bewegungsweise zur irrigen Annahme von Blutparasiten gekommen sind. Wir möchten hier nur auf den einen Fall hinweisen, daß Kahane (24) derartige seiner Beschreibung nach mit Hämokonien übereinstimmende Gebilde für Krebsparasiten gehalten hat.

An diesen Körperchen aus dem normalen Blute kann man auch häufig die Einbiegung des einen meist spitzeren Teiles beobachten, die Siegel (38) und F. E. Schulze (34) als charakteristisch für die Parasiten beschrieben haben. Derartige Knickbewegungen sieht man auch vielfach an noch größeren unregelmäßigen, häufig stäbchen- oder perlschnurartigen Abschnürungsformen der roten Blutkörperchen. Von einem gewissen Rhythmus dieser letzteren Bewegungsart, den man aus Siegels Mitteilungen (37) entnehmen muß (4mal in der Sekunde), konnten wir uns allerdings weder an den vermeintlichen Parasiten noch an den Zerfallsprodukten aus dem Blute der Kontrolltiere überzeugen. Da Siegel in seinen späteren Arbeiten nichts mehr davon erwähnt, wissen wir nicht, ob er noch daran festhält.

Bei den Bewegungserscheinungen der Hämokonien und Zerfallsprodukte ist es nun ohne weiteres klar, daß es sich dabei nur um Molekularbewegung handelt. Auch die Einbiegung der letzteren erklärt sich aus molekularen Umsetzungen der sich zersetzenden, äußerst plastischen Substanz derselben. Da aber die Bewegung der Siegelschen

Parasiten nicht von der der erwähnten Gebilde des normalen Blutes unterschieden werden kann, so fehlt der Beweis, daß es sich bei **ersteren** um eine aktive Bewegung handelt; vielmehr spricht der Umstand, daß sich auch hierbei, wie dies Siegel (38) selbst beschreibt, die Gebilde aus einem Umkreis von etwa  $15\ \mu$  nicht herausbewegen, entschieden nur für Molekularbewegung. Auch durch die Einwirkung einer Chloralhydratlösung (Siegel) oder von Chloroformdämpfen (Klebs), wodurch nach Siegel nur die Bewegung seiner Parasiten sistiert wird, kann unserer Ansicht nach nicht die aktive Lokomotion derselben erwiesen werden. Wir haben diese Versuche sowohl mit Blut normaler wie geimpfter Kaninchen nachgemacht. Dabei läßt sich allerdings beobachten, daß manche Gebilde zur Ruhe kommen. Aber abgesehen davon, daß dies sowohl im normalen wie im vaccinierten Blut zu beobachten ist, findet man auch in unbeeinflussten Präparaten ganz Ähnliches. Vielfach kommt ein solches Körperchen zur Ruhe, bleibt dann eine Zeitlang ruhig liegen und beginnt nach einigen Minuten wieder plötzlich lebhaft hin und her zu tanzen. Gewöhnlich sind es die mittelgroßen Gebilde von etwa  $2\ \mu$ , die dies zeigen, während die kleineren selten die Bewegung einstellen.

Darauf hinweisen möchten wir noch, daß bei Verdünnung der Blut- und Gewebssaftpräparate mit destilliertem Wasser — eine Methode, die Siegel wenigstens bei seinen ersten Arbeiten angewandt hat — die Zahl der stark beweglichen Gebilde viel größer ist, wie es ja auch von Siegel angegeben wird. Das kann nicht wunder nehmen, da ja die Wirkung des destillierten Wassers als starkes Zellgift bekannt ist und somit von vornherein ein reichlicheres Auftreten von Abschnürungs- und Zerfallsprodukten zu erwarten ist.

2) Auch die gelegentliche **Beobachtung von sogenannten Geißeln** resp. geißelartigen Fortsätzen an den Körperchen kann nicht ohne weiteres als Beweis für die aktive Beweglichkeit und die Flagellatennatur gelten. Solche geißelartige Fortsätze kann man allerdings fast in jedem lebenden Präparat beobachten, also viel häufiger, als es nach den Angaben Siegels der Fall zu sein scheint. Doch konnten wir derartige scheinbare Flagellen auch im normalen Blute nachweisen, sofern reichlich Hämokonien und den Siegelschen Körpern ähnliche Zerfallsprodukte darin vorhanden waren. An diesen Gebilden kann man öfters sehen — gleichgültig ob sie aus normalen oder mit Vaccine geimpften Tieren stammen — wie sich ein kleineres Körnchen von einem der größeren ca.  $2\ \mu$  großen, geißeltragenden Gebilde löst. Dasselbe gleitet dabei an der scheinbaren Geißel entlang, die sich dabei lebhaft hin und her bewegen kann. Eine Zeitlang sieht man so die beiden Gebilde durch die Geißel miteinander verbunden, dann löst sich das kleine Körnchen ab, wobei das scheinbare Flagellum entweder ganz an dem größeren Korn bleibt oder auch durchreißt, so daß nun zwei geißeltragende Formen entstehen, eine größere und eine kleinere. In Fig. 1 a und b sind verschiedene Zustände eines solchen Vorganges an demselben Gebilde aus vaccinierten Kaninchen nacheinander gezeichnet. Die nebenstehende Fig. 2 zeigt Ähnliches aus normalem Blut. Auch Arnold (1, 2) hat bei der Plasmorrhaxis der Erythrocyten derartige scheinbare Geißeln beschrieben.

Häufig kann man auch beobachten, wie sich von oder aus roten Blutkörperchen ein einziges oder eine Reihe von Körnchen ablöst, wobei gleichfalls häufig ein Faden entsteht, durch den dieselben mit dem Erythrocyten

noch eine Zeitlang im Zusammenhang bleiben. Derartige Bilder haben gleichfalls Arnold (1, 2, 4) und vor ihm schon andere Forscher, wie M. Schultze (35), beschrieben und abgebildet, so daß wir auf eine bildliche Darstellung verzichten können. Die dabei zu beobachtenden Bilder erwecken ganz den Eindruck, als ob dabei ein kleiner Flagellat mit seiner Geißel hängen geblieben sei und sich nun bemühte, wieder freizukommen. Auf solche Bilder hat Siegel (44) gerade hingewiesen, um sich von dem Vorhandensein der Geißeln zu überzeugen. Allerdings kann es sich dabei auch tatsächlich um ein Festkleben eines vorher frei sich bewegenden resp. bewegten geißeltragenden Körperchens handeln, und ferner kann man einwenden, daß diese Abschnürungsprodukte sich von den Siegelschen Körperchen durch andere Merkmale unterscheiden lassen, worauf später noch eingegangen werden soll. Selbst wenn wir dies vorderhand zugeben, so zeigt doch das hier geschilderte Vorkommen und die Entstehung geißeltragender Körperchen im normalen Blute, daß der Besitz derartiger scheinbarer Flagellen weder als Beweis für die aktive Beweglichkeit noch für die Flagellatennatur gelten kann. Dies bildet aber in den Arbeiten von Doehle (10, 11) und Stassano (48) so ziemlich das einzige Kriterium, auf die sie die Protozoennatur der von ihnen beschriebenen Gebilde stützen, und auch bei Siegel ist dies eines der Hauptargumente dafür.

Der Nachweis derartiger geißelartiger Fortsätze im gefärbten Präparat, der allerdings, wie Siegel (44) selbst angibt, nur in seltenen Fällen gelingt, ist gleichfalls kein Beweis dafür, daß es sich dabei um echte (tierische) Flagellen handelt. Die Bilder, die Siegel (44) davon gegeben hat und worauf die Körperchen bei gleicher Größe bald eine, bald zwei oder drei verschiedenen inserierende Geißeln aufweisen, erinnern schon dadurch nicht gerade sehr an Flagellaten. (Dasselbe gilt von den Abbildungen von Doehle (11) und Stassano (48) nach den lebenden Objekten, die ganz mit den von uns im normalen Blute beobachteten Formen übereinstimmen.) Es ist auch nicht einzusehen, warum die von Arnold und uns beobachteten geißelartigen Fortsätze sich nicht färben lassen sollen. In den Fig. 7 u. 8 haben wir zwei derartige Körperchen mit gefärbten Geißeln abgebildet, die aus einem normalen Blutpräparat stammen, das nach Siegels Vorschrift für Geißelfärbung behandelt worden war. Besonders das größere derselben gleicht unserer Erinnerung nach ganz einem Geißelpräparat, das uns Herr Dr. Siegel in lebenswürdiger Weise demonstriert hatte. An dem Körperchen, von dem die beiden sogenannten Geißeln entspringen, sind in den Ecken dunkler gefärbte Stellen (Kerne?) zu sehen. In manchen unserer Präparate fanden wir auch vielfach Fäden (vermutlich ausgestrichene Leukocytenkerne oder Fibrinfäden) gefärbt, die dann den Eindruck losgelöster gefärbter Geißeln hervorriefen. Es erscheint uns wahrscheinlich, daß die Spirochäten, die Bonhoff (6) aus Vaccinepusteln dargestellt zu haben glaubt, mit solchen oder ähnlichen gefärbten fädigen Elementen (ausgezogene Leukocytenkerne) verwechselt worden sind, da diese Mikroorganismen unseres Wissens von diesem Forscher nicht lebend beobachtet worden sind. Seine Photogramme gleichen wenigstens unseren Bildern auffallend (siehe Fig. 9 u. 10).

Dazu sei noch bemerkt, daß wir selbst seit dem Bekanntwerden der Schaudinn'schen Spirochäte bei Syphilis viele Mühe darauf verwendet haben, derartige Mikroorganismen bei der Vaccine nachzuweisen, und

zwar haben wir sowohl Lymphe wie geimpfte Cornea, Konjunktivalflüssigkeit und innere Organe daraufhin untersucht. Wir haben aber nie etwas Derartiges beobachten können, besonders auch nie im lebenden Präparat, wo eine Verwechslung mit Kunstprodukten ausgeschlossen ist. Wir halten demnach das Vorkommen von Spirochäten als spezifische Befunde bei den Pocken für nicht erwiesen.

Die gleiche Ansicht bezüglich der Bonhoffschen Angaben und des Vorkommens der Spirochäten bei Vaccine hat auch kürzlich Carini zum Ausdruck gebracht (Carini, A., Sind die Vaccineerreger Spirochäten? [Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX. 1905]).

3) **Größe.** Während Siegel (44) in seinen früheren Mitteilungen die Bewegungsweise seiner Parasiten als verschieden „von denen aller übrigen etwaigen Beimengungen des Blutes mit gleich großen Gebilden“ hingestellt hatte, hat er später (45) selbst auf die Uebereinstimmung in diesem Punkt mit den Hämokonien hingewiesen. Daher scheidet er von nun an alle Gebilde unter  $1\ \mu$  von einer Diagnose aus. Die Hämokonien sollen nämlich nach ihm nur eine Größe von  $\frac{1}{3}$ — $\frac{2}{3}\ \mu$  besitzen (H. F. Müller gibt sie bis zu  $1\ \mu$  Größe an), während die Cytorhyctesflagellaten in dieser Größe zwar vorkommen, in der Regel aber  $1\frac{1}{2}$ — $2\frac{1}{2}\ \mu$  groß sind. Von den übrigen Gebilden aber, die „in der gewöhnlichen Größe mittelgroßer Cytorhyctesparasiten“ sich gelegentlich im Blute finden, unterschieden sich dieselben durch ihre starke Lichtbrechung und ihre Kernbilder. Daß Gebilde von der erwähnten Größe ziemlich häufig vorkommen, davon kann man sich durch die Blutuntersuchung einer Anzahl normaler Tiere überzeugen. Wie es mit den beiden Unterscheidungsmerkmalen steht, werden wir nun sehen.

4) Was zunächst die „**stärkste Lichtbrechung**“ anlangt, so konnten wir uns nicht überzeugen, daß dieselbe spezifisch für die vermeintlichen Parasiten sei, da man sie unserer Meinung nach auch bei Gebilden von ca.  $2\ \mu$  Größe aus normalem Blute beobachten kann. Hat man Zerfallsprodukte unter dem Mikroskop, die sich erst kürzlich abgeschnürt haben oder gerade sich abschnüren, so ist es allerdings leicht, zu konstatieren, daß ihre Lichtbrechung bedeutend schwächer ist als die der Hämokonien, mit denen Siegels Parasiten ja in diesem Punkte übereinstimmen sollen. Immerhin findet sich schon in solchen Bildern eine große Mannigfaltigkeit, worauf schon Arnold mehrfach hingewiesen hat. Neben deutlich hämoglobinhaltigen finden sich auch völlig hämoglobinfreie Kügelchen mit oder ohne glänzende Körner; ferner Gebilde, die mit Blutplättchen ganz übereinstimmen u. s. w. Andererseits kann man aber im ganz frischen Blutpräparat, bei dem noch keine Spur von Blutzerfall zu beobachten ist, bei manchen Tieren (normalen wie vaccinierten) Gebilde von mannigfaltigstem Grade der Lichtbrechung beobachten, die alle Grade ausmachen von dem starken Glanz der Hämokonien bis zu der matten Lichtbrechung abgeschnürter Teile von Erythrocyten, die noch schwach gelbrot aussehen. Wir haben dadurch gleich Arnold (3, 4) die Ueberzeugung gewonnen, daß auch die Hämokonien ebenso wie die größeren stark lichtbrechenden Gebilde von ca.  $2\ \mu$  Größe wohl zum größten Teil von Zerfallsprodukten der Erythrocyten herzuleiten sind. Ihre stärkere Lichtbrechung haben sie offenbar nur einer chemischen Umsetzung bei diesem Zerfall zu verdanken (daher auch wohl ihre heftige Molekularbewegung).

Vielfach kann man auch Gebilde von der betreffenden Größe beobachten, die je nach ihrer Lage schwächer oder stärker lichtbrechend

sind. Sehr häufig haben die größeren Formen, und zwar auch im normalen Blute, seitlich etwas abgeplattete längliche Körper, wie es auch von Siegel und F. E. Schulze (34) für die Parasiten beschrieben wurde. Von der schmalen Kante gesehen, zeigen dieselben stärksten Glanz, von oben dagegen viel schwächere Lichtbrechung und das bei gleich scharfer Einstellung.

Siegel (44) hat noch einen Versuch angeführt, der den Unterschied seiner Parasiten in der Lichtbrechung beweisen soll. Bei Durchleuchtung des Präparates mit stärkstem Licht (einer Bogenlampe von 20 Ampère Stromstärke) und Projektion des Bildes durch den neuen großen Zeiss'schen Zeichenapparat sollen nämlich alle übrigen Gebilde des Blutes verschwinden und nur „die Parasiten wie glitzernde Kügelchen auf der Tischfläche projiziert werden“. Wir haben diesen Versuch nachgemacht, aber nicht dieses Resultat erhalten. Wir erhielten stets alle Gebilde des Blutes projiziert. Wie dieser verschiedene Ausfall des Versuches zu erklären ist, wissen wir nicht.

Wir kommen danach zu dem Schlusse, daß der starke Glanz ebensowenig wie die Bewegungsweise und die Geißelbeobachtung als spezifische Merkmale der Gebilde im Blute geimpfter Kaninchen gelten können. Es bleibt nun nur noch ein Punkt, den Siegel für ihre Spezifität anführt, ein Punkt, der allerdings an sich schon für die Frage der Protozoennatur eventuell entscheidend wäre, nämlich:

#### 5) Der Bau aus Plasma und Kernen und die deutliche Teilung der Kerne.

Der Bau seiner Parasiten aus Kern und Plasma und die regelmäßige Anordnung der ersteren soll nach Siegel schon am lebenden Präparat zu erkennen sein. In einer seiner Mitteilungen (44) sagt er: „Bei Eintrocknen der Präparate verändert sich das Aussehen der Parasiten. Die Bewegung läßt allmählich nach und der vorher so auffällige Glanz weicht einem opaken Aussehen. Jetzt treten auch die vorher durch den hellen Glanz verdeckten Kerne in den Vordergrund, und man zählte ganz deutlich 2—4—6—8—16 stärker lichtbrechende Punkte in denselben. Diese Kerne sind, worauf ausdrücklich hingewiesen werden mag, stets in regelmäßiger Anordnung befindlich, so daß man immer wieder den Eindruck von in bestimmter typischer Weise vor sich gehenden Teilungsvorgängen erhält.“ Auch hierzu haben wir wieder zu bemerken, daß man die hier beschriebenen sogenannten Plasma- und Kernbilder mit regelmäßiger Anordnung der Kerne im Blute ganz verschiedener Herkunft beobachten kann, und zwar nicht nur im eintrocknenden, sondern auch im ganz frischen Präparat, was ja auch Siegel (47) angegeben hat. In den Fig. 3, 4 haben wir einige derartige Bilder aus dem normalen Blute gezeichnet. Im übrigen haben wir darauf verzichtet, eine größere Anzahl derartiger Bilder nach dem lebenden Präparat wiederzugeben, da dieselben mit den von Stassano (48), Doehle (11) und Siegel (44) abgebildeten aus kranken Tieren und Menschen vollkommen übereinstimmen, wie unsere wenigen Figuren (2—4) aus normalen Kaninchen sowie manche Abbildungen von Arnold schon zeigen. Nur einen Fall wollen wir noch genauer anführen, den wir erst vor einigen Tagen beobachteten. In einem Blutpräparat konnten wir zahlreiche stark lichtbrechende Gebilde mit einzelnen glänzenden Körnern beobachten, die lebhaft bewegten zeigten, darunter z. B. eines mit 4 regelmäßig angeordneten glänzenden Punkten, das also ganz mit den Beschreibungen



Siegels übereinstimmte. Das Präparat war aber aus durch Chamberland-Kerze filtriertem normalen Kaninchenblut hergestellt, das 8 Tage nach der Filtration im Brutschrank bei 37° aufbewahrt und steril geblieben war. Auf das Vorkommen solcher Körperchen in diesen Filtraten sowie in Blutnährböden werden wir zum Schlusse im Zusammenhang noch zurückkommen.

Man könnte allerdings einwenden, daß wir noch nicht die nötige Uebung hätten, um derartige Zerfallsprodukte von den Siegelschen Parasiten zu unterscheiden. Aber so viel ist sicher, daß aus der Beobachtung regelmäßig angeordneter glänzender Punkte nicht auf die Kernnatur und ebensowenig auf in bestimmter typischer Weise vor sich gehenden (Kern-)Teilungen geschlossen werden kann. Und ebensowenig kann der „helle Saum“ darum ohne weiteres als Protoplasma gedeutet werden.

Aus den Untersuchungen von Form und Bau der Gebilde im lebenden Präparat kann daher weder die Protozoennatur noch die Spezifität für die Vaccine als bewiesen betrachtet werden.

(Forts. folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Fütterungsversuche mit trichinösen Fäkalien.

### Vorläufige Mitteilung.

Von **H. M. Höyberg,**

Tierarzt in der Kopenhagener Gesundheitskommission.

Als Tierarzt der Kopenhagener Gesundheitskommission habe ich während der letzten Jahre reichlich Gelegenheit gehabt, mich intensiv mit der gegenwärtig in unserem Lande so aktuellen Trichinenfrage zu beschäftigen, und die im folgenden wiedergegebene interimistische Mitteilung über Fütterungsversuche mit trichinösen Fäkalien ist nur ein Glied in der Reihe der Trichinenversuche, die ich zur Zeit anstelle. Da dies hier behandelte Verhältnis an sich von größter Bedeutung im Kampfe gegen die Trichinenkrankheit ist, besonders gegen die Schweine-trichinose, hielt ich es für das Beste, die Leser dieser Zeitschrift schon jetzt damit bekannt zu machen.

Wie als bekannt vorauszusetzen ist, hat man angenommen, daß Darmtrichinen, die sich entwickeln, wenn ein Tier Nahrung mit eingekapselten Muskeltrichinen aufgenommen hat, keines anderen Tieres Magensaft passieren können, ohne selbst zu Grunde zu gehen, d. h. daß die Trichinenkrankheit nur nach Invasion von Muskeltrichinen entstehen könnte.

Meine hier in aller Kürze aufgezeichneten Versuche haben dargetan, daß diese Annahme entbehrlich, daß dagegen die Darmtrichine auch im stande ist, die Trichinose hervorzurufen.

Den Versuchen, die im bakteriologischen Laboratorium „Ratin“ vorgenommen wurden, folgte dessen Leiter, Herr Tierarzt Bahr, mit größtem Interesse, für das ich demselben hierdurch meinen besten Dank ausspreche.

Die Versuche sind in folgender Weise vorgenommen:

## Versuch I.

Vier graubraune Ratten wurden einmal täglich, vom 5.—7. und vom 9.—19. Jan. 1906 jeden zweiten Tag mit trichinösem Schweinefleisch gefüttert. Im übrigen bestand das Futter aus Brot und Wasser.

Ratte a. Starb 24. Jan. 1906 morgens. Bedeutende Abmagerung. Im sehnigen Teil des Zwerchfelles und im Bindegewebe der Intercostalmuskeln ein Gewimmel von nicht eingekapselten Trichinen. Anscheinend war es nicht möglich, Trichinen in der Muskulatur nachzuweisen. Im Mageninhalt fanden sich einzelne weibliche und männliche Trichinen; im Dünndarm-, Dickdarm- und Mastdarminhalt viele weibliche und männliche Trichinen.

Ratte b. 24. Jan. 1906 schleimige Abführung, in der weibliche trüchtige und viele männliche Trichinen zu konstatieren waren. 29. Jan. Faeces fest. In den meisten Faecespräparaten waren viele weiblicher trüchtiger Trichinen bemerkbar.

Ratte c. Starb 24. Jan. 1906 abends. Bedeutende Abmagerung. Hatte längere Zeit schleimige Diarrhöe. Bei der Sektion konstatierte ich im Zwerchfell und in den Intercostalmuskeln, im sehnigen Teil und im Bindegewebe eine Unzahl von freien Trichinen. Eine Anzahl war auch in die Muskulatur eingedrungen, doch konnte keine Kapselbildung nachgewiesen werden. Im Mageninhalt waren keine Trichinen zu bemerken. Dagegen waren viele im Dünndarminhalt nachweislich weiblichen und männlichen Geschlechts, viele auch im Inhalte des Dick- und des Mastdarmes.

Ratte d. 25. Jan. 1906 normale Abführung. 26. Jan. Mehrere weibliche Trichinen werden in den Faeces nachgewiesen. 29. Jan. In den meisten Faecespräparaten werden viele weiblicher trüchtiger und männlicher Trichinen nachgewiesen.

## Versuch II.

3 weißlich-bunte Berliner Ratten (a, b, c) und 2 bunte Ratten (d, e) vom Versuchslaboratorium (Kopenhagen) wurden einmal täglich mit 48 Stunden Zwischenraum vom 9.—23. Jan. 1906 mit Fäkalien gefüttert von den braunen Ratten in Versuch I. Die Fäkalien waren mit Brot gemischt.

Ratte a. Getötet 8. Febr. 1906. Keine Diarrhöe. Trichinen waren weder im Zwerchfell noch in den Intercostalmuskeln nachzuweisen. Auch im Inhalt des Darmkanals waren keine Trichinen nachweisbar (weder weibliche noch männliche).

Ratte b. Getötet 23. Febr. 1906. Im Zwerchfell und in den Intercostalmuskeln wurden auf jedem Beobachtungsfeld durchschnittlich 4—5 frische eingekapselte Trichinen nachgewiesen. Ein Teil derselben war nicht ganz entrollt.

Ratte c. Getötet 23. Febr. 1906. Im Zwerchfell und in den Intercostalmuskeln durchschnittlich 4—6 frisch eingekapselte Trichinen auf jedem Beobachtungsfeld bemerkbar.

Ratte d. Getötet 23. Febr. 1906. Im Zwerchfell und in den Intercostalmuskeln 5—12 frisch eingekapselte Trichinen auf jedem Beobachtungsfeld. Ein Teil der Trichinen war noch nicht ganz entrollt.

Ratte e. Getötet 23. Febr. 1906. Wenige frisch eingekapselte Trichinen, nur in der Zungenmuskulatur nachgewiesen.

Aus Versuch II geht hervor, daß unter 5 Ratten 4 durch Fütterung mit Fäkalien infiziert wurden. Damit ist also der Beweis erbracht, daß Tiere, die mit Trichinen behaftet sind, durch ihre Fäkalien einander anzustecken vermögen. Wir betreten hiermit ein neues Gebiet im Kampf gegen die Trichinenkrankheit, ein Umstand, der vielleicht von weitgehender Bedeutung werden kann.

Den oben beschriebenen Versuchen sollen in nächster Zeit selbstredend weitere zur Ergänzung folgen, bei denen umfassendere Untersuchungen nicht nur mit Ratten, sondern auch mit Schweinen angestellt werden sollen.

Nachdruck verboten.

# Die Tänien der Raubvögel.

Von Dr. O. Fuhrmann, Académie Neuchâtel.

Mit 32 Figuren.

(Schluß.)

## *Anomotaenia trapezoides* n. sp.

Fig. 14—17.

Wirt: *Urubutinga zonura* Kow.

Geographische Verbreitung: Brasilien und Zentralamerika.

Fundort: Brasilien. Hofmuseum in Wien, Glas No. 485.

Das Genus *Anomotaenia* ist von Cohn aufgestellt worden mit dem Typus *A. microrhyncha* (Krabbe). Er zählt in demselben 4 sichere und

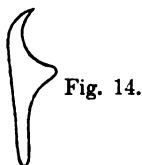


Fig. 14.

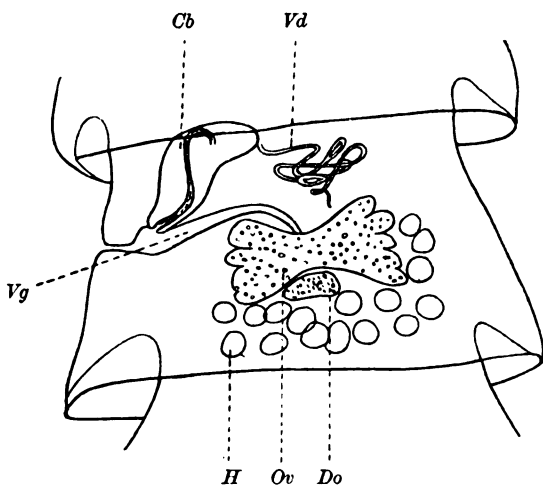
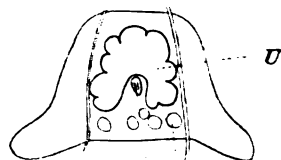


Fig. 15.



R H  
Fig. 16.

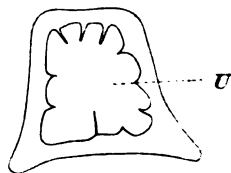


Fig. 17.

Fig. 14. *Anomotaenia trapezoides* n. sp. Haken des Rostellums.

Fig. 15. *Anomotaenia trapezoides* n. sp. Proglottis, Totalpräparat. Bezeichnungen wie in Fig. 2.

Fig. 16. *Anomotaenia trapezoides* n. sp. Reifes Glied, Totalpräparat.

Fig. 17. *Anomotaenia trapezoides* n. sp. Ganz reifes Glied, Totalpräparat.

12 unsichere Arten. Warum der Autor die von Volz gut untersuchte *T. constricta* Molin weder unter den sicheren noch unsicheren zu diesem Genus gehörenden Arten aufzählt, ist nicht ersichtlich<sup>1)</sup>. Nach

1) Cohn, Zur Anatomie und Systematik der Vogeltänien. (Nova Acta. Bd. LXXIX. 1901. p. 407.) Cohn zählt unter die sicheren Arten *T. puncta* v. Linstow,

meinen Untersuchungen umfaßt dieses Genus etwa 25 Vogeltänienarten. *A. trapezoïdes* ist der erste Vertreter des Genus *Anomotaenia* in Raubvögeln.

Die Länge dieser Art beträgt 7 cm, ihre größte Breite 0,4 mm. Die einzelnen Glieder der Strobila sind trapezoedrisch (z. B. vorn 0,28 breit, hinten 0,4 breit). Der Skolex besitzt einen Durchmesser von 0,17 mm und trägt ein Rostellum mit 20 in doppelter Reihe angeordneter Haken. Dieselben sind 0,03 mm lang und waren schwer deutlich sichtbar, so daß ich nur eine Habituszeichnung eines Hakens geben kann.

Leider ist das Material stark mazeriert, so daß ich nur undeutlich außer der Transversalmuskulatur eine doppelte Lage von schwachen Längsbündeln sehen konnte. Vom Exkretionssystem habe ich nur das ventrale Gefäß beobachtet.

Die zahlreichen Kalkkörperchen sind besonders peripher und (0,008 mm) am Hinterrand der Proglottiden konzentriert.

Die Geschlechtsorgane münden unregelmäßig abwechselnd links oder rechts aus (r., r., r., r., l., r., l., r., l., l., l., r., l., l., l., l., r., r., l., l., r., r. etc.) und zwar, in der vorderen Hälfte des Seitenrandes der Glieder, in eine tiefe Genitalkloake.

Der Cirrusbeutel, 0,16 mm lang, reicht über das Wassergefäß durch bis in die Mitte des Markparenchyms, er enthält einen 0,16 mm lang bestachelten Cirrus. Das Vas deferens bildet in der Mitte des Gliedes einen Knäuel. Hinter und seitlich den weiblichen Geschlechtsorganen liegen die zahlreichen Hoden, welche 0,028 mm im Durchmesser messen. Da wegen des schlechten Erhaltungszustandes nur Totalpräparate angefertigt wurden und das Hinterende der Proglottide von dichtgedrängten Kalkkörperchen erfüllt ist, konnte deren Zahl nicht bestimmt werden.

Die Vagina, von starker Membran ausgekleidet, ist sehr weit und führt direkt nach Bildung eines kurzen Receptaculum seminis zum leicht zweiflügligen Ovarium, das 0,16 mm breit. Dicht dahinter liegt median der 0,06 mm breite Dotterstock.

In reifen Gliedern sehen wir den Uterus zunächst im Vorderteil der Proglottis gelegen, hinten das Receptaculum umfassend. Später verschwindet dieses und die Hodenreste und es erfüllt der Uterus das ganze Markparenchym sackartig, doch gehen von seiner Wandung kurze Scheidewände nach innen.

### *Paruterina angustata* n. g. n. sp.

Fig. 18—21.

Wirt: *Scops brasilianus* Gm.

Geographische Verbreitung: Nördliches Südamerika.

Fundort: Brasilien. Hofmuseum in Wien, Glas No. 36.

Dieser Vertreter des am Schlusse charakterisierten neuen Genus, dem auch *T. candelabraria* Goeze angehört, unterscheidet sich leicht von letzterer Tänie, welche, wie diese, in Nachtraubvögeln vorkommt.

Der von Natterer gesammelte Cestode ist als *T. candelabraria* bestimmt worden und wird als solcher auch in Linstows Helminthologie und anderen Arbeiten aus *Scops brasiliensis* angeführt. Die genaue Untersuchung hat ergeben, daß wir es mit einer neuen Art desselben

welche aber, wie Volz (Beitrag zur Kenntnis der Vogelestoden. Arch. f. Nat. 1900) nachgewiesen, identisch ist mit *T. constricta* Molin (syn. *T. puncta* v. Linst., *T. affinis* Krabbe, *T. coronina* Krabbe, *T. gutturosa* Giebel, nach Volz).

Genus zu tun haben, so daß also *T. candelabraria* nicht in Südamerika vorkommt.

Die Strobila ist  $\frac{3}{4}$  mm breit und ca. 5 cm lang.

Die Proglottiden sind weniger breit als lang und werden in den reifen Gliedern ganz quadratisch.

Der Skolex, der sich nur wenig deutlich von der Strobila absetzt, hat einen Durchmesser von 0,16–0,18 mm, die Saugnäpfe einen solchen



Fig. 18.



Fig. 19a.



Fig. 19b.

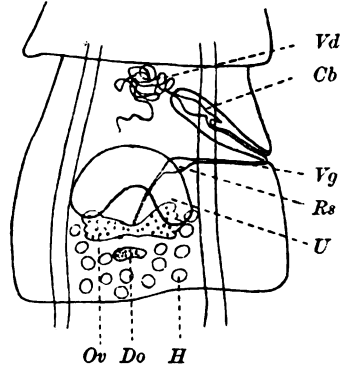


Fig. 20.

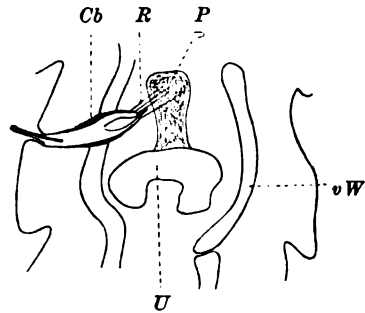


Fig. 21.

Fig. 18. *Paruterina angustata* n. g. n. sp. Skolex.

Fig. 19a u. b. *Paruterina angustata* n. g. n. sp. Haken des Rostellums.

Fig. 20. *Paruterina angustata* n. g. n. sp. Junge Proglottis, Totalpräparat. Bezeichnungen wie in Fig. 2 und 3.

Fig. 21. *Paruterina angustata* n. g. n. sp. Flächenschnitt. Bezeichnungen wie in Fig. 2 und 3.

von 0,07 mm. Das Rostellum zeigt in seiner Struktur große Ähnlichkeit mit dem der Davaineen, es hat einen Durchmesser von 0,1 mm und ist mit einer doppelten Krone von ca. 52 Haken bewaffnet. Die größeren (Fig. 19a) messen 0,057, die kleinen (Fig. 19b) 0,046 mm. Sie sind von den Haken von *T. candelabraria* deutlich verschieden.

Ueber die Muskulatur ist nur zu bemerken, daß außer den Dorso-ventralfasern und der inneren Transversalmuskulatur sich zwei Lagen von Längsmuskelfasern befinden, von welchen die inneren, dorsal und ventral 10–12 an der Zahl, weniger zahlreich und aus 6–7 Fasern zusammengesetzt sind, während die äußeren Bündel nur 2–3 Fasern umfassen.

Vom Wassergefäßsystem habe ich das dorsale Gefäß nicht sehen können, das ventrale ist ca. 0,04 mm weit.

Die Geschlechtsöffnungen sind im Gegensatz zu *T. candelabraria* einseitig in der Mitte des Randes ausmündend.

Die Hoden (0,021 mm Durchmesser) in der Zahl von 20, liegen größtenteils hinter den weiblichen Geschlechtsdrüsen in doppelter Lage; nur einzelne rechts und links vom Keimstock. Das Vas deferens bildet in der Nähe des Cirrus einen dichten Knäuel; es ist von zahlreichen Drüsenzellen umgeben. Der Cirrusbeutel ist etwa 0,13–0,18 mm lang und reicht deshalb über das Wassergefäß ins Markparenchym hinein. In reifen Gliedern finden wir im Cirrusbeutel eine kleine Vesicula seminalis, welche bei *T. candelabraria*<sup>1)</sup> zu fehlen scheint. Hingegen sehen wir wie bei letzterer Tänie einen gut entwickelten Retraktor des Cirrusbeutels.

Die Vagina, die hinter dem Cirrusbeutel in die Genitalkloake mündet, besitzt keinen Sphinkter (wie *T. candelabraria*) und zeigt, sobald sie das Wassergefäß überschritten, ein kleines Receptaculum seminis, das bei *T. candelabraria* zwischen den beiden Flügeln des Keimstockes liegt. Wenn sehr stark gefüllt, kann sich derselbe weiter nach hinten erstrecken. Das Ovarium ist etwas weniger beutelförmig als bei ebengenannter Tänie, es ist 0,18 mm breit; der kleine Dotterstock liegt direkt hinter der weiblichen Genitaldrüse (Fig. 20).

Der junge Uterus liegt nicht wie bei *T. candelabraria* am Hinterend der Proglottis und zeigt auch eine andere Form; er findet sich halbmondförmig vor den weiblichen Genitaldrüsen gelegen. Ihm sitzt vorn der typische Parenchymzapfen auf (Fig. 21), in welchen später die Eier eindringen. Dies scheint aber erst bei abgelösten Proglottiden der Fall zu sein, deren ich keine besaß. In reiferen Gliedern mit stark gefülltem Uterus ist die hintere Einstülpung nicht mehr sehr deutlich zu sehen.

Für diese beiden naheverwandten und nur aus Nachtraubvögeln bekannten Cestoden glaube ich die Gründung eines neuen Genus nötig, das in die Nähe von *Metroliaesthes* Ransom zu stellen ist.

Das Genus *Paruterina* kann folgendermaßen charakterisiert werden: Skolex mit einem einfachen, von einem doppelten Kranz von Haken bewaffneten Rostellum. Geschlechtsöffnungen einseitig oder unregelmäßig abwechselnd. Hoden hinter und neben dem zweiflügligen Keimstock. Dem Uterus ein Parenchymzapfen (Paruterinorgan) vorn aufsitzend, in welchen wohl die Eier sehr spät eintreten.

Typus: *T. candelabraria* Goeze.

### *Dilepsis oligorchida* n. sp.

Fig. 22–25.

Wirt: *Busarellus nigricollis* (Lath.).

Geographische Verbreitung: Brasilien, Guyana.

Fundort: Brasilien. Hofmuseum in Wien, Glas 482.

Es ist dies der erste aus Raubvögeln bekannte Vertreter dieses Genus, das seine Vertreter in den *Ciconiiformes*, *Passeriformes* und *Charadriiformes* hat.

1) Wolffhügel, K., Beitrag zur Kenntnis der Vogelhelminthen. Inaug.-Diss. Basel 1900, 204 p. 7 Taf.

Dieser Cestode ist 7 cm lang und 1 mm breit, die Glieder der Strobila immer ziemlich breiter als lang (s. Fig. 23). Der vom Hals deutlich abgesetzte Skolex besitzt einen Durchmesser von 0,34 mm, seine Saugnäpfe einen solchen von 0,12 mm. Das Rostellum ist bewaffnet von einer doppelten Krone von 28 Haken, von welchen die größeren eine Länge von 0,09, die kleinen 0,064—0,068 mm lang sind. Der Fußteil ist bei ersteren 0,03, bei letzteren 0,04 mm lang (Fig. 22). Die Form ist bei beiden dieselbe.

Ueber die leider stark maceririerte Muskulatur ist nichts zu berichten.

Die beiden Paare von Exkretionsstämmen liegen übereinander. Kalkkörperchen sind sehr zahlreich, aber ganz an der Peripherie des Körpers unter der Haut gelegen.



Fig. 22.

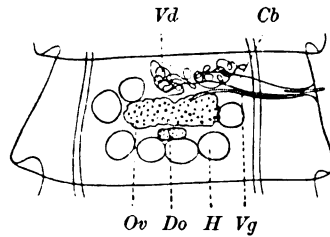


Fig. 23.

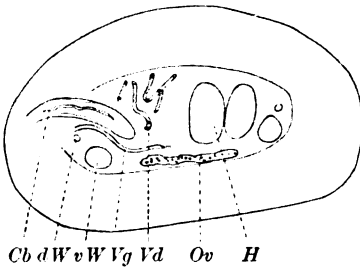


Fig. 24.

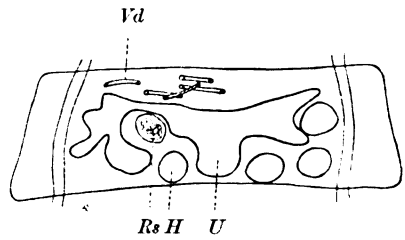


Fig. 25.

Fig. 22. *Dilepis oligorchida* n. sp. Haken des Rostellums.

Fig. 23. *Dilepis oligorchida* n. sp. Proglottis, Totalpräparat. Bezeichnungen wie in Fig. 2 und 3.

Fig. 24. *Dilepis oligorchida* n. sp. Querschnitt. Bezeichnungen wie in Fig. 2 und 3.

Fig. 25. *Dilepis oligorchida* n. sp. Reife Proglottis, Flächenschnitt. Bezeichnungen wie in Fig. 2 und 3.

**Geschlechtsorgane.** Die Geschlechtsöffnungen sind unilateral und auf der Grenze zwischen erstem und zweitem Drittel der Länge der Glieder gelegen.

Der Cirrusbeutel ist 0,24 mm lang, schlauchförmig und reicht bis fast in die Mitte des Gliedes, dabei biegt er sich nach dem Uebertritt der Exkretionsstämmen immer ventralwärts. Ueber ihm und weiter nach innen sieht man die zahlreichen Schlingen des Vas deferens. Die Hoden umfassen seitlich und hinten die weiblichen Drüsen, sie sind in der Zahl von 6—8 und zeigen einen Querdurchmesser von 0,07 mm und einen Höhendurchmesser von 0,1 mm.

Die Vagina mit spät sich entwickelndem Receptaculum seminis ist sehr starkwandig und wie der Cirrus, ventralwärts gebogen (Fig. 24), verläuft sie direkt zu dem flachen, aber fast die ganze Breite des Markparenchyms einnehmenden Keimstock. Derselbe ist nur leicht gelappt.

Er ist 0,24 mm breit, während der Dottersack, der etwas dorsaler liegt, 0,05 mm breit ist.

Der anfangs dorsal und median gelegene Uterusschlauch zeigt starke Ausbuchtungen, welche anfangs die Hoden umfassen, sie später aber nach hinten verdrängen, bis schließlich der Uterus das ganze Markparenchym sackartig erfüllt. Der Cirrusbeutel, Vagina und Receptaculum seminis bleiben bestehen.

***Oligorchis strangulatus* n. g. n. sp.**

Fig. 26—30.

Wirt: *Elanoides furcatus* (L.).

Geographische Verbreitung: Zentralamerika bis Brasilien.

Fundort: Brasilien. Hofmuseum in Wien, Glas 483.

Diese einfach gebaute Tänie besitzt ein besonderes Interesse, weil sie bei oberflächlicher Beobachtung dem Genus *Hymenolepis* anzugehören scheint, was aber nicht zutrifft, da statt nur 3 Hoden regelmäßig vier solcher zu finden sind.

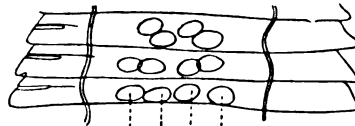
Ueber die Länge der kurzgliederigen Strobila kann ich keine bestimmten Angaben machen, da keine vollständigen Exemplare vorhanden,



Fig. 26.



Fig. 27.



H H H H

Fig. 28.

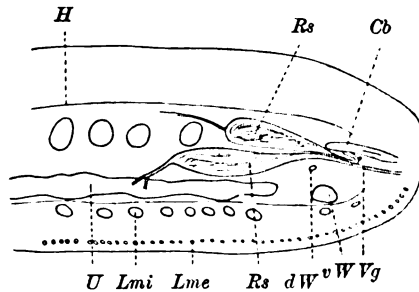


Fig. 30.

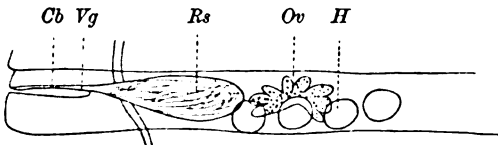


Fig. 29.

Fig. 26. *Oligorchis strangulatus* n. g. n. sp. Skolex.

Fig. 27. *Oligorchis strangulatus* n. g. n. sp. Haken des Rostellums.

Fig. 28. *Oligorchis strangulatus* n. g. n. sp. Totalpräparat.

Fig. 29. *Oligorchis strangulatus* n. g. n. sp. Geschlechtsreifes Glied, Totalpräparat. Bezeichnungen wie in Fig. 2 und 3.

Fig. 30. *Oligorchis strangulatus* n. g. n. sp. Querschnitt, Vs Vesicula seminalis, Lmi innere Längsmuskulatur, Lme äußere Längsmuskulatur, übrige Bezeichnungen wie in Fig. 2 und 3.



es wird dieser Cestode eine Länge von etwa 10 cm haben, bei einer Breite von 1 mm. Der Skolex, der auf dem mir vorliegenden Exemplare durch eine Einschnürung von der Strobila scharf abgegrenzt ist, zeigt einen Durchmesser von 0,23 mm, die sphärischen Saugnäpfe einen solchen von 0,09 mm. Das Rostellum ist bewaffnet mit 14—16 Haken von 0,034 mm Länge, welche ziemlich genau denjenigen der 10-hakigen *Hymenolepis stylosa* aus dem Raben entsprechen. Der äußere Habitus sowie auch die Form der Haken entsprechen also den *Hymenolepis*-Arten; sehen wir, inwieweit dies auch für die innere Anatomie zutrifft.

Die Muskulatur besteht aus Dorsoventral- und Transversalfasern, und wie bei *Hymenolepis*-Arten finden sich zwei Lagen von Längsmuskelbündeln. Die inneren Längsbündel sind so disponiert, daß zwischen den beiden Längsgefäßen sich dorsal und ventral meist 6 bis 8 ziemlich starke Bündel finden; in der Region des Wassergefäßsystems und außerhalb derselben je ein Bündel. Jede dieser 3 Bündelgruppen ist durch einen größeren freien Raum getrennt. Die äußere feinere Bündellage ist kontinuierlich und die Zahl der Faserbündel bedeutend zahlreicher.

Die beiden Paare von Exkretionsgefäßen liegen übereinander. Der Cirrusbeutel ist 0,19 mm lang und erreicht deshalb die 0,3 mm vom Rande entfernten Exkretionsstämme nicht. Nachdem das Vas deferens über die Wassergefäße ins Markparenchym getreten, bildet es eine große Vesicula seminalis. Die Hoden liegen über den weiblichen Drüsen leicht nach hinten verschoben, statt aber wie zu erwarten, deren drei zu finden, sehen wir 4 Hoden mehr oder weniger in einer Linie disponiert. Die Lage der Hoden ist wie aus Fig. 28 ersichtlich, nicht immer dieselbe. Der Durchmesser der Hoden beträgt 0,1 mm. Die weiblichen Geschlechtsorgane zeigen nichts besonderes.

Ovarium und Dottersack liegen median, beide sind klein und namentlich der 0,2 mm breite Keimstock tief gelappt. Die Vagina ventral vom Cirrusbeutel gelegen, erweitert sich schon über den Exkretionstämmen zu einem mächtigen keulenförmigen Receptaculum seminis. Der Uterus anfangs ein ventralgelegener Querschlauch, ist in reifen Gliedern sackförmig, das ganze Markparenchym erfüllend.

Die Oncosphären haben einen Durchmesser von 0,028 mm, die äußere Hülle einen solchen von 0,044 mm.

Da diese Art mehr als 3 Hoden hat, ist es nicht wohl möglich, dieselbe in dem scharf umschriebenen Genus *Hymenolepis* unterzubringen, man müßte denn in der Genusdiagnose anführen 1—4 Hoden, denn es wäre dann kein Grund vorhanden, nicht auch *Aploporaksis* und *Diorchis* sowie *Echinocotyle* vielleicht als Subgenera im Genus *Hymenolepis*<sup>1)</sup> zu vereinigen. Unter den ca. 90 Arten wäre dies bis jetzt die einzige Form im Genus *Hymenolepis*, die regelmäßig 4 Hoden hat. Ausnahmsweise werden in seltenen Fällen bei gewissen Arten in einzelnen Gliedern 4 Hoden beobachtet. Andererseits könnte man für diese Art ein besonderes Genus schaffen, das ein Zwischenglied bildete zwischen den Tänien mit einem Hakenkreuz und zahlreichen Hoden, und den sehr spezialisierten Formen mit meist nur 8—10 Haken, einseitigen Genitalöffnungen und 1, 2 oder 3 Hoden (*Aploporaksis*, *Diorchis*, *Echinocotyle* und *Hymenolepis*). Ich würde in diesem Falle den Namen *Oligorchis* vorschlagen.

1) Wie ich in einer demnächst erscheinenden Arbeit zeigen werde, kann das Subgenus *Drepanidotaenia* nicht bestehen bleiben.

*Dipylidium avicola* n. sp.

Fig. 31.

Wirt: *Gyps Kolbi* (Daud).

Geographische Verbreitung desselben: Südafrika.

Fundort: Südafrika. Hofmuseum in Wien, Glas 347.

Es ist dies der erste Vertreter des Genus *Dipylidium*, der in Vögeln gefunden wurde, und wenn ich nicht eine zweite Art in einer Taube (Aegypten) gefunden hätte, würde ich geneigt sein, obige Art als aus einem von *Gyps* verschlungenen Säugetier stammend zu betrachten, obwohl die vorliegende Art mit keiner der bis jetzt bekannten Säugetier-Dipylidien übereinstimmt.

Die betreffenden Cestoden sind bis 15 cm lang und 2 mm breit. Die Glieder der Strobila sind bei den zahlreichen Exemplaren auch am Hinterende kaum quadratisch und besonders die jüngeren Glieder bedeutend breiter als lang.

Der Skolex ist 0,48 mm breit, während die kreisrunden Saugnäpfe nur 0,14 mm im Durchmesser messen. Das zurückgezogene konische Rostellum war nur bei einem Exemplar noch mit einem einfachen Kranz von ca. 32 Haken bewaffnet, welche 0,028 mm lang sind. Die Form derselben ist aus der beigegebenen Figur ersichtlich; der Skolex geht ohne Abgrenzung in den kurzen Hals und die Strobila über. Hinter den Saugnäpfchen findet sich eine dichte Masse von Kalkkörperchen, die überhaupt in der ganzen Strobila, namentlich im Rindenparenchym, aber

Fig. 31. *Dipylidium avicola* n. sp. Haken des Rostellums von der Seite und von vorn gesehen.



auch im zentralen Teile der Proglottiden sehr zahlreiche sind (Größe 0,012—0,018 mm).

Ueber die Muskulatur der Strobila sei nur bemerkt, daß innen eine starke Transversalmuskulatur liegt, auf welche nach außen eine bis 0,03 mm starke Lage von Längsmuskelfasern folgt, welche aber nicht in Bündel angeordnet ist.

Vom Wassergefäßsystem habe ich nur das 0,13 mm weite ventrale Längsgefäßpaar und sein ebenfalls weites Verbindungsgefäß gesehen. Die Geschlechtsorgane sind doppelt und münden jederseits ungefähr auf der Grenze zwischen erstem und zweitem Drittel aus.

Der Cirrusbeutel 0,23—0,3 mm lang, reicht bis auf das ventrale weite Exkretionsgefäß; das aus ihm austretende Vas deferens zeigt zahlreiche Windungen, welche die ganze Höhe des Markparenchyms einnehmen, um sich dann vor den weiblichen Genitaldrüsen in zahlreiche, sehr deutlich sichtbare Verzweigungen aufzulösen. Die zahlreichen Hoden liegen ventral, und nicht wie dies gewöhnlich bei den Tänien der Fall, dorsal; sie bilden eine einfache Lage, so daß dorsal von ihnen ein freier Markparenchymraum sich findet.

Die Vagina mündet vor und ventral vom Cirrus aus; sie ist bis in die Höhe des Exkretionsgefäßes dickwandig, vor dem Ovarium erweitert sie sich zu einem spindelförmigen Receptaculum seminis. Das Ovarium ist wie bei *Dip. Trinchesii* kompakt, nur oberflächlich leicht eingekerbt. Der Dotterstock ist leicht gelappt. Der Keimstock ist 0,24, der Dotterstock 0,13 mm breit. Der Uterus ist anfangs ähnlich gebaut wie bei den *Monopylidium*-Arten, d. h. wir sehen zahlreiche enge Schläuche, die das

Markparenchym durchqueren, Schläuche, in welchen die Eier einzeln hintereinander liegen. Bald verschwindet aber die Wandung des Uterus und die Eier kommen wie bei *Dip. Trinchesii* Diam., und *Dip. Pasqualei* Diam. einzeln ins Parenchym zu liegen und zwar in 2—3-facher Lage unregelmäßig zerstreut. Dabei treffen wir die von einer dichten, sich sehr dunkel färbenden Hülle umgebenden Eier auch außerhalb der Exkretionsstämme. Die reifen Oncosphären haben einen Durchmesser von 0,024, die äußere Hülle einen solchen von 0,032 mm.

***Taenia heteracantha* n. sp.**

Fig. 32.

Wirt: *Milvus aegypticus* (Gm.).

Geographische Verbreitung: Südeuropa, Afrika.

Fundort: Kapstadt. Museum München.

Die Vögel beherbergen nur ganz wenige Vertreter des Genus *Taenia*, d. h. Formen, welche der *T. solium* des Menschen ähnlich sind, außer obiger Tānie ist mir nur als Vertreter desselben Genus *T. brachysoma* Setti aus *Anas boschas* und *T. globifera*<sup>1)</sup> Batsch aus Raubvögeln bekannt. Die Strobila unseres Cestoden ist mehr als 30 cm lang, indem die gemessenen Exemplare noch keine reifen Oncosphären im Uterus hatten. Die größte Breite beträgt 7 mm. Die letzten Glieder maßen 8 mm in der Länge und 4 mm in der Breite; da wo die Proglottis am breitesten (7 mm) ist, sind die Glieder 3 mm lang, während sie noch weiter vorn, wo die Geschlechtsorgane eben angelegt, 4 mm breit und 0,66 mm lang sind.

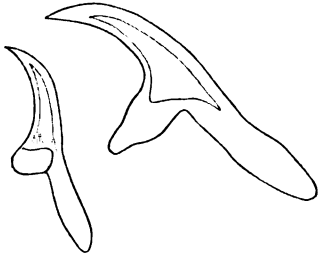


Fig. 32. *Taenia heteracantha* n. sp. Die beiden Hakenformen des Rostellums.

Der Skolex besitzt einen Durchmesser von 1 mm, die vier kugeligen Saugnäpfe haben einen solchen von 0,4 mm, das kurze Rostellum ist kaum etwas dicker. Es trägt 32 Haken, von welchen die großen 0,20 mm, die kleinen 0,14, von der Spitze bis zum hinteren Wurzelast, messen. Die Distanz vom vorderen Wurzelastende bis zum hinteren Wurzelastende beträgt bei den großen Haken 0,12, bei den kleinen Haken 0,07 mm; während die Distanz von der Spitze bis zum vorderen Wurzelastende bei ersteren 0,1, bei den kleinen 0,08 mm beträgt.

Die Cuticula ist sehr dick (0,023 mm) und erscheint aus drei sich verschieden färbenden Schichten zusammengesetzt.

Die Muskulatur besteht aus einer mächtigen Lage von Transversalmuskelfasern und nach außen ungleichmäßig in kleine Bündel zusammengefaßt die Längsmuskulatur, die bis unter die Cuticula geht, so daß

1) Für *T. globifera* hat Cohn loc. cit. p. 390 das Genus *Cladotaenia* begründet, ohne eine Diagnose desselben zu geben. Er stellt in dasselbe auch die unbewaffnete *Taenia dentritica* Goeze (aus dem Eichhörnchen). Janicki (Zoolog. Anz. Bd. XXVIII. p. 230) hat gezeigt, daß *T. dentritica* mit *T. pusilla* Goeze zusammen in das Genus *Catenotaenia* gehört. Der Typus aber des Genus *Cladotaenia* Cohn, die *T. globifera* ist, wie aus den gründlichen anatomischen Angaben der Autoren ersichtlich, nichts anderes als eine typische *Taenia* und es liegt nicht der geringste Grund vor, für diesen Cestoden ein neues Genus zu schaffen. Das Genus *Cladotaenia* muß also fallen

ein freies Rindenparenchym nicht existiert. Dorsoventralmuskulatur stark entwickelt.

Das von Längsmuskelfasern erfüllte Rindenparenchym ist sehr mächtig entwickelt, denn bei einer Dicke der Proglottis von 0,8 mm ist das Markparenchym nur 0,17 mm hoch. Kalkkörperchen im Rinden- und Markparenchym.

Das Exkretionssystem besteht aus einem Paar, weiter ventral gelegener Längsgefäße, die am Hinterende miteinander verbunden sind; das dorsale kleinere Gefäß liegt ein wenig nach innen verschoben. Die beiden Längsnerven mit ihren beiden Begleitnerven sind direkt außerhalb der Wassergefäße gelegen, finden sich aber der Dorsalseite des Markparenchyms genähert.

Die Geschlechtsorgane sind ganz wie bei *T. solium* disponiert. Die Genitalkloake, unregelmäßig abwechselnd, bald rechts, bald links, liegt in der hinteren Hälfte der Strobila und ist sehr tief. Man sieht zahlreiche Muskelfasern von ihrer Wandung ins Parenchym ausstrahlen. In sie mündet der schlauchförmige, 0,39 mm lange Cirrusbeutel, der einen Retraktor besitzt. Das austretende Vas deferens ist stark gewunden; die Windungen sind auf eine schmale Zone beschränkt, welche bis in die Mitte des Gliedes reicht. Die zahlreichen Hoden sind in einfacher Lage dorsal disponiert und 0,06–0,1 mm groß.

Die Vagina liegt hinter dem Cirrusbeutel, sie bildet anfangs einige schwache Schlingen um dann nach dem am Hinterende des Gliedes gelegenen Keimstock zu ziehen. Vor demselben zeigt sie ebenfalls einige Windungen, verengert sich dann plötzlich stark und bildet vor ihrer Vereinigung mit dem Ovidukt ein *Receptaculum seminis*. Dasselbe liegt mit seiner Längsachse in der Mittellinie des Gliedes und ist 0,3 mm lang, bei einem Durchmesser von 0,16 mm. Wie bei den Menschen-tánien, so bilden auch hier Keimstock und Dotterstock in jungen Gliedern ein Zellnetz. Beide Drüsen sind sehr breit.

Der Uterus besteht anfangs aus einem medianen, vorn leicht anschwellenden Zellstrang, bald aber bilden sich die seitlichen Abzweigungen, deren Zahl jederseits etwa 35–37 beträgt. Diese primären Abzweigungen sind oft wieder stark verzweigt, und zwar beginnt dieselbe oft schon in sehr geringer Entfernung vom medianen Hauptstamm. Die seitlichen Enden derselben sind häufig keulenförmig angeschwollen. Die Eier des Uterus sind noch nicht vollkommen entwickelt.

---

Nachdruck verboten.

# Un nouveau *Taenia* (Davainea) chez les Prosimiens.

Note préliminaire.

Par Prof. J. Bourquin, Dr. ès sc.

Parmi les dix ou onze espèces de *Davainea* décrites jusqu'ici comme parasites des Mammifères, aucune n'avait été signalée dans le tube digestif des Prosimiens. En examinant un lot de *Taenias* provenant de l'intestin d'un Galéopithèque tué à Sumatra par M<sup>r</sup> le Dr. W. Volz, je reconnus, parmi de nombreux exemplaires appartenant aux espèces *Bertia plastica* Sluiter<sup>1)</sup> et *Bertia elongata* Bourquin<sup>2)</sup>, un certain nombre d'individus se rattachant au genre *Davainea* et constituant une espèce nouvelle dont la diagnose peut être formulée comme suit:

*Davainea lateralis* n. sp.  
de *Galeopithecus volans*.

Strobile rubané atteignant 135 mm de longueur, 3,5 mm de largeur et 0,9 mm d'épaisseur. 300 à 400 proglottis toujours plus larges que longs. Scolex petit et peu apparent, subsphérique. 4 ventouses circulaires de 0,14 mm de diamètre, sans revêtement de crochets chitineux. Rostellum conique et rétractile, armé d'une couronne de 152 crochets en forme de marteau et disposés sur deux rangs. Revêtement cili-forme cuticulaire sur presque toute la surface du Scolex à l'exception des ventouses. Cou distinct. — Pores génitaux unilatéraux.

Organes mâles: 40 à 50 testicules disposés sur deux rangs, contre les faces dorsale et postérieure des segments, entre l'appareil femelle et les tronc excréteurs du côté opposé. Poche du cirre courte, pyriforme, ne s'étendant pas jusqu'aux canaux excréteurs. Vésicule séminale interne. Nombreuses cellules prostatiques entourant le canal déférent.

Organes femelles: Complexe des glandes situé en dedans de la ligne médiane, du côté des pores, et n'occupant que  $\frac{1}{12}$  de la largeur totale des segments. Vagin latéral et postérieur par rapport au canal déférent. Oeufs répartis dans 60 à 70 capsules parenchymateuses contenant chacune 4 à 5 oeufs de 0,018 mm à 0,024 mm de diamètre. Oncosphère de 0,009 mm. Deux enveloppes ovulaires.

Peu de corpuscules calcaires. Canal excréteur dorsal situé au-dessus et en dedans du ventral. 3 nerfs longitudinaux de chaque côté dans les segments jeunes.

Hôte: *Galeopithecus volans*. Collectionné par le Dr. W. Volz à Sumatra.

A part les Cestodes sus-nommés, l'intestin renfermait encore un grand nombre de Nématodes.

1) Sluiter, C. Ph., *Taenia plastica* n. sp., eine kurzgliedrige *Taenia* aus *Galeopithecus volans*. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XIX. 1896.)

2) Bourquin, J., Cestodes de Mammifères, le genre *Bertia*. (Rev. Suisse de Zool. T. XIII. 1905.)

*Nachdruck verboten.*

## Beitrag zur Lehre von den antagonistischen Serumfunktionen.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Königsberg i. Pr.  
Direktor R. Pfeiffer.]

Von **R. Pfeiffer** und **E. Friedberger**.

Für die Wirkung der von Pfeiffer und Friedberger zuerst beschriebenen antagonistischen Substanzen normaler Sera, die bislang einer befriedigenden Erklärung auf der Basis der bisherigen Immunitätstheorien entbehrte, glaubt nunmehr Gay eine Deutung gefunden zu haben.

In seiner Arbeit „The fixation of alexines by specific serum precipitates“ (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXIX. p. 603) versucht er, diese antagonistische Wirkung auf die Bildung spezifischer Präzipitate und deren Fähigkeit, Komplement zu binden und dadurch lytische Prozesse (Bakteriolyse, Hämolyse) zu hemmen, zurückzuführen.

Daß tatsächlich eine derartige Fixation des Komplementes beim Zusammentreffen von Präzipitogen und Präzipitin zu stande kommt, hat zuerst Moreschi und unabhängig von ihm nur wenig später Gay selbst in weiterer Ausführung älterer Versuche von Gengou gezeigt. Moreschi hat speziell als erster darauf hingewiesen, daß diese Komplementbindung die Ursache aller jener Phänomene ist, die man bisher auf die Wirkung vermeintlicher spezifischer Antikomplemente hat zurückführen wollen.

Tatsächlich scheint es ja auf den ersten Blick, daß auch bei unseren antagonistischen Serumversuchen die Bedingungen für eine derartige Präzipitation im Gefolge der auftretenden Wirkung mit ihren Konsequenzen gegeben sind.

Die antagonistischen Serumfunktionen treten bekanntlich erst nach Ausfällung der Normalsera mit den respektiven Bakterien hervor, wodurch, wie wir annehmen, die den Antagonismus sonst verdeckenden Normalambozeptoren aus dem Serum entfernt werden. Es ist natürlich unvermeidlich, daß bei einer derartigen Behandlung des Normalserums eine gewisse Menge von Bakterienleibessubstanz in Lösung geht; sie würde als präzipitogene Substanz fungieren können und beim Hinzutreten eines spezifischen homologen Immunserums vermöge dessen Gehalt an Krausschen Bakterienpräzipitinen zur Bildung eines Präzipitats Veranlassung geben können.

Dadurch käme dann eine Behinderung der Komplementfunktion zu stande, welche zu jenem Versagen der bakteriolytischen Wirkung führt, wie wir dieselbe in den Versuchen mit antagonistischen Seris sehen.

In ihrer Arbeit: „Ueber scheinbare antikomplementäre und Antiambozeptorwirkung präzipitierender Sera im Tierkörper“ (Berl. klin. Wochenschr. 1906. No. 2) haben allerdings Pfeiffer und Moreschi schon darauf aufmerksam gemacht, daß die quantitativen Verhältnisse in den Pfeiffer-Friedbergerschen Tierexperimenten, wie sie in den Arbeiten der beiden Autoren (Dtsche med. Wochenschr. 1905. No. 1 u. No. 29) niedergelegt sind, sich mit der Gayschen Erklärung nicht

leicht in Einklang bringen lassen. Die Mengen von Immuns serum, welche durch das antagonistisch gemachte Serum in ihrer bakteriolytischen Wirkung gehemmt werden, sind nämlich so gering, daß die Möglichkeit einer deutlichen Präzipitationsbildung von vornherein höchst unwahrscheinlich ist. Haben doch auch Pfeiffer und Moreschi in der oben erwähnten Arbeit gezeigt, daß antikomplementäre Wirkungen gerade im Tierkörper nur unter solchen quantitativen Verhältnissen von Präzipitin und Präzipitinogen, welche eine optimale Präzipitation ermöglichen, beobachtet werden. Diese theoretischen Gegenargumente dürften uns aber doch nicht davon abhalten, die Gaysche Hypothese einer experimentellen Prüfung zu unterziehen. Wir suchten dementsprechend zunächst zu ermitteln, ob das beim Zusammentreffen von Immuns serum (Präzipitin) und antagonistisch gemachtem Normalserum (Präzipitinogen) sich möglicherweise bildende Präzipitat überhaupt eine antikomplementäre Wirkung entfalte, wenn auch nur unter den günstigsten Bedingungen des Reagenzglasversuchs. Wir ließen die zu dieser Präzipitatbildung erforderlichen Komponenten unter Gegenwart von Komplement aufeinander einwirken und benutzten als Indikator für die Beeinflussung des Komplementes ambozeptorbeladene Blutkörperchen, die nach Zusatz zu der erwähnten Mischung unaufgelöst blieben oder aufgelöst wurden, je nachdem das Komplement durch die Einwirkung des eventuell gebildeten Präzipitats unwirksam gemacht wurde oder nicht. Im einzelnen gestaltete sich die von uns verwandte Versuchsanordnung, wie folgt:

Als antagonistisches Serum (Präzipitinogen) diente normales Kaninchenserum, welches, soweit nicht anders angegeben, eine Stunde lang bei 37° C mit 18-stündigen Choleraagarkulturen in der Menge von 1 Kultur auf je 5 ccm Serum behandelt und dann scharf zentrifugiert worden war. In einzelnen Versuchen wurde eine Quote des zentrifugierten Serums zur Entfernung der letzten noch zurückgebliebenen Bakterien durch eine Berkefeld-Kerze filtriert.

Als Präzipitin wurde das Serum choleraimmuner Tiere verwendet. In unseren früheren antagonistischen Tierversuchen hatten wir uns in der Mehrzahl der Experimente mit bestem Erfolge des Serums von Kaninchen bedient, die nur einmal mit minimalen Dosen abgetöteter Cholera vorbehandelt waren. Ein solches Serum mußte diesem Herstellungsmodus entsprechend sehr arm an Präzipitinen sein. In den nunmehr zu berichtenden Versuchen benutzten wir absichtlich als Präzipitin das Serum einer lange Zeit mit relativ großen Dosen bei 60° abgetöteter Cholera Bakterien immunisierten Ziege vom Titer  $\frac{1}{1,5}$  mg. Man durfte voraussetzen, daß entsprechend der sehr langen Vorbehandlung mit erheblichen Mengen von Cholera Bakterien ein derartiges Serum Bakterienpräzipitine in viel höherem Grade enthalten würde als die vorerwähnten Kaninchensera, so daß, wenn überhaupt Präzipitine bei unserem Phänomen eine Rolle spielen, die Vorbedingungen für die Verifizierung der Gayschen Hypothese besonders günstig erschienen. Als Komplement wurde Normalmeerschweinchenserum benutzt, und zwar in Mengen, die das Doppelte der jedesmal festgestellten, hämolytisch wirksamen Minimaldosis betragen.

Das antagonistische Serum, das Choleraimmuns serum und das Komplement serum wurden jedesmal in entsprechenden Quantitäten gemischt und  $\frac{1}{2}$  Stunde im Brutschrank gehalten, um die Bedingungen für die Entstehung eines Präzipitates und für die Komplementbindung besonders günstig zu gestalten.

Dann wurden mit spezifischem Ambozeptor beladene Ziegenblutkörperchen der Mischung zugesetzt. Diese Blutkörperchen waren folgendermaßen behandelt: Defibriniertes und dreimal mit reichlichen Mengen von Kochsalz gewaschenes Ziegenblut wurde in 10-proz. Aufschwemmung mit einem Ueberschuß von Immuns serum, welches von einem mit Ziegenblut vorbehandelten Kaninchen stammte, versetzt. Nach einer halben Stunde bei 37° wurden die Blutkörperchen von der Serumverdünnung abzentrifugiert, wiederum dreimal mit reichlichen Mengen physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und in 10-proz. Aufschwemmung der Mischung der drei vorerwähnten Komponenten zugesetzt.

Die Mengenverhältnisse des mit Bakterien ausgefällten Normalserums und des Immuns erums waren denen unserer früheren Tierversuche über antagonistische Serumwirkungen entsprechend gewählt worden, d. h. es wurden Dosen von 0,1—0,5 des antagonistischen Serums mit einer Menge des Immuns erums versetzt, welche 3 I.-E. entsprach (= 0,2 mg).

Wenn das unter diesen Bedingungen entstehende „Präzipitat“ ausreichend war, um die gesamten im Peritoneum des Meerschweinchens im Moment der Infektion enthaltenen und im weiteren Verlauf fortwährend hinzukommenden Komplementmengen zu neutralisieren, so mußte es um so mehr für die minimalen Komplementmengen in vitro (2 dos. minim.) genügen.

Die in dem ausgefällten Kaninchenserum selbst enthaltenen Komplementmengen waren nach Art der Vorbehandlung der Sera — die zudem meist mindestens 24 Stunden alt waren — sicher sehr gering. Sie ließen sich zudem leicht durch vorherige Inaktivierung des N.-K.-S. entfernen. Da aber ein derartig behandeltes Serum gegenüber dem nicht erhitzten in unserer Versuchsanordnung keinerlei Unterschiede bot, so wurde auf diese Inaktivierung in den meisten Versuchen verzichtet.

Kontrollversuche wurden in doppelter Richtung angestellt; einmal wurde das antagonistische Serum allein mit beladenen Blutkörperchen versetzt, um die eventuelle Wirkung von Bakterienhämolsin festzustellen. In einem weiteren Kontrollversuch wurde das antagonistische Serum plus Komplement ohne Immuns erum (Präzipitin) mit den beladenen Blutkörperchen vermischt.

Dieser Versuch sollte über eine eventuelle antihämolytische Wirkung des antagonistischen Serums an sich, welche dann natürlich mangels eines Präzipitins nicht auf Präzipitation im Gayschen Sinne beruhen konnte, Aufschluß geben.

Die verschiedenen antagonistisch gemachten Normalsera zeigten fast alle, jedoch keineswegs in gleichem Grade, eine gewisse antihämolytische Wirkung. Im ganzen waren aber doch die Resultate so eindeutig, daß wir uns auf die Veröffentlichung einiger entsprechenden Tabellen aus unseren zahlreichen Versuchen beschränken können. Zugleich mit der antihämolytischen Wirkung wurde die antagonistische im Tierversuch geprüft.

In der Mehrzahl der Fälle ließen also für sich allein, wie die Tabellen zeigen, die antagonistischen Normalkaninchensera eine mehr weniger deutliche, mit der Menge des betreffenden Serums zunehmende antihämolytische Wirkung erkennen.

Dieser antihämolytische Effekt ist bei Verwendung filtrierten Serums geringer als mit zentrifugiertem und schwindet fast vollständig



**Tabelle I.** Serum eines normalen Kaninchens 40 Minuten bei 57° inaktiviert. Das inaktive Serum wurde mit Cholera vibrionen (eine Agarkultur auf je 5 ccm Serum) 1 Stunde bei 37° digeriert, dann scharf zentrifugiert. Das Zentrifugat wird noch durch eine Liliputkerze filtriert. Das Filtrat wird auf seine antihämolytische und antagonistische Funktion geprüft.

$\frac{1}{2}$ Stunde 37°			Mit spezifischem Immunkörper beladene 10-proz. Ziegenerythrocytenaufschwemmung	Resultat
ausgefälltes und filtriertes Kaninchenserum	Cholera-ziegenimmunserum	Normal-Meerschweinchen-serum (Komplement)		
0,1	0,2 mg = 3 I.-E.	0,04 = 2 Dos. minim.	1,0 der 10-proz. Aufschwemmung	komplett
0,3	do.	do.	do.	komplett
0,5	do.	do.	do.	kleine Kuppe
Kontrollen:				
0,5	—	do.	do.	do.
0,5	—	—	do.	0
—	—	0,04 = 2 Dos. minim.	do.	komplett

Alle Röhrchen mit physiologischer Kochsalzlösung auf 1,0 gebracht.

Bestimmung der antagonistischen Funktion des ausgefällten und filtrierten Normalkaninchenserums:

0,1 hemmt nicht 3 I.-E. Cholera-ziegen-serum  
 0,5 hemmt 3 I.-E. „

**Tabelle II.** Serum eines normalen Kaninchens wurde 2 Stunden lang bei 37° mit Cholera vibrionen (eine Agarkultur auf je 5 ccm Serum) digeriert; zentrifugiert. Zentrifugat über Nacht kalt gestellt, am folgenden Morgen nochmals umgeschleudert. Eine Hälfte wurde direkt, die andere nach vorheriger Filtration durch eine Liliputkerze benutzt.

$\frac{1}{2}$ Stunde 37°			Mit spezifischem Immunkörper beladene 10-proz. Ziegenerythrocytenaufschwemmung	Resultat bei Verwendung von zentrifugiertem   filtriertem	
ausgefälltes Normalkaninchenserum zentrifugiert bezw. filtriert	Cholera-ziegenimmunserum	Normal-Meerschweinchen-serum (Komplement)		ausgefälltem	Normalserum
0,2	0,2 mg = 3 I.-E.	0,06 = 2 Dos. minim.	1,0 der 10-proz. Aufschwemmung	komplett	komplett
0,3	do.	do.	do.	do.	do.
0,4	do.	do.	do.	do.	do.
0,5	do.	do.	do.	do.	do.
Kontrollen:					
0,5	—	do.	do.	do.	do.
0,5	—	—	do.	0	0
—	—	0,06 = 2 Dos. minim.	do.	komplett	komplett

Alle Röhrchen auf 1,0 mit physiologischer Kochsalzlösung aufgefüllt.

Bestimmung der antagonistischen Wirkung des ausgefällten und filtrierten Normalkaninchens im Meerschweinchenversuch.

	zentrifugiert	filtriert
0,5 ausgefälltes Kaninchenserum	hemmt 3 I.-E. Cholera-ziegen-serum	hemmt nicht 3 I.-S. Cholera-ziegen-serum; Grenze: Ablauf der Lyse ist sehr verzögert; Tier geht ein; mit mikroskopisch sterilem Peritoneum

**Tabelle III.** Serum von 2 normalen Kaninchen 1 Stunde lang bei 37° mit Cholera-vibrien (eine Kultur auf je 5 ccm Serum) digeriert, dann zentrifugiert; ein Teil des Serums wird besonders lange und scharf zentrifugiert. Die Hälfte des zentrifugierten Serums wird filtriert. Von dem zentrifugierten resp. filtrierten Serum wird je eine Quote 40 Minuten auf 60° erwärmt. Alle 5 Quoten werden auf ihre antihämolysische und antagonistische Funktion geprüft.

Ausgefälltes Normalkanin- chenserum zentrifugiert resp. filtriert, frisch resp. auf 60° erhitzt	Cholera- ziegen- immun- serum	Normales Meer- schwein- chen- serum (Komple- ment)	Mit spezifischem Immunserum be- ladene 10-proz. Ziegenblut- körperauf- schwemmung	Resultate bei Verwendung von ausgefälltem Normalkaninchen serum				
				1mal zentrif- ugiert	2mal zentrif- ugiert	filtriert	zentrif- ugiert 60°	filtriert 60°
0,1	0,2 mg = 3 I.-E.	0,02 = 2 dos. minim.	1,0 der 10-proz. Aufschwemmung	Kuppe	Kuppe	komplett	komplett	komplett
0,3	do.	do.	do.	do.	do.	kleine Kuppe	do.	do.
0,5	do.	do.	do.	do.	do.	Kuppe	do.	do.
Kontrollen:								
0,5	—	do.	do.	do.	do.	do.	do.	do.
0,5	—	—	do.	0	0	0	0	0
—		0,02	do.	—	—	—	—	—
				komplett				

Alles auf 1,0 mit physiologischer Kochsalzlösung aufgefüllt.

**Bestimmung der antagonistischen Funktion der einzelnen Quoten des ausgefällten Normalkaninchen serums:**

Serum zentrifugiert	Serum filtriert	Serum zentrifugiert 60°	Serum filtriert 60°
0,5 hemmt 3 I.-E. Cholerazienserum	0,5 hemmt nicht 3 I.-E. Cholera- zienserum	0,5 hemmt 3 I.-E. Cholerazienserum	0,5 hemmt 3. I.-E. Cholerazienserum

**Tabelle IV.** Behandlung des Serums von 2 normalen Kaninchen wie vorher.

Ausgefälltes Nor- malkaninchen- serum zentrifugiert resp. filtriert uner- hitzt resp. erhitzt	Cholera- ziegen- immun- serum	Normales Meer- schwein- chen- serum (Komple- ment)	Mit spezifischem Immunserum be- ladene 10-proz. Ziegenblutkörper- aufschwemmung	Serum unerhitzt		Serum 60°	
				zentrif- ugiert	filtriert	zentrif- ugiert	filtriert
0,1	0,2 mg = 3 I.-E.	0,06 = 2 dos. minim.	1,0 der 10-proz. Aufschwemmung	komplett	komplett	komplett	komplett
0,3	do.	do.	do.	kleine Kuppe	do.	do.	do.
0,5	do.	do.	do.	Spur	Kuppe	sehr kleine Kuppe	do.
Kontrollen:							
0,5	—	do.	do.	do.	Kuppe	do.	do.
0,5	—	—	do.	0	0	0	0
—	—	2 dos. minim.	do.	—	—	—	komplett

Alle Röhren mit physiologischer Kochsalzlösung auf 1,0 aufgefüllt.

## Bestimmung der antagonistischen Wirkung der einzelnen Quoten des ausgefällten Normalkaninchenserums.

Serum zentrifugiert (unerhitzt)		Serum filtriert (unerhitzt)	
0,5	hemmt 3 I.-E. Choleraziogenserum	0,5	hemmt 3 I.-E. Choleraziogenserum
0,1	" 3 "	0,3	" 3 "
(Grenze: Tier tot, mit spärlichen Vi-		0,1	" 3 "
brionen)		0,05	" 3 "
		0,02	" 3 "
		0,01	" nicht 3 I.-E. Choleraziogen-
			serum

oder auch vollkommen, wenn das antagonistische Serum zuvor auf 60° erhitzt worden ist.

Daß aber die antihämolytische Wirkung der antagonistisch gemischten Sera mit einer Präzipitation im Gayschen Sinne absolut nichts zu tun hat, ergibt sich zur Evidenz aus den Kontrollversuchen, in denen, sofern eine Hemmungswirkung überhaupt zu stande kam, sie auch ohne Zusatz von Choleraimmenserum erfolgte; dabei bestehen auch nicht die geringsten graduellen Unterschiede in der Hemmung der Hämolyse, wenn die Versuche mit oder ohne Zusatz von Immenserum (Präzipitin) angestellt werden.

Es war immer noch der Einwand möglich, daß eine Präzipitation zwar nicht zwischen Immenserum und antagonistischem Serum, aber doch vielleicht seitens einer dieser Komponenten mit den normalen Eiweißkörpern im Meerschweinchenperitoneum zu stande kommt. Daraufhin unter Zusatz von normalem Meerschweinchenperitonealexsudat oder normalem, vorher inaktiviertem Meerschweinchenserum angestellte hämolytische Versuche führten jedoch nicht zu einer Bestätigung dieser Annahme.

Wenn wir nun nach der Ursache der antihämolytischen Wirkung der antagonistisch gemachten Normalsera forschen, so ist zunächst der Gedanke naheliegend, daß sie durch die in diesen Seris noch suspendierten Vibrionen hervorgerufen wird.

Dafür spricht vor allem die Tatsache, daß filtrierte Sera schlechtere antihämolytische Wirkung aufweisen als einfach zentrifugierte Sera.

Die Bakterienleiber an sich können jedoch für die antihämolytische Wirkung nicht verantwortlich gemacht werden.

Schwemmt man nämlich die Vibrionen statt in Normalkaninchenserum in Aqua dest. auf und zentrifugiert nachher möglichst scharf, so vermag die so erhaltene, immer noch recht trübe und sehr bakterienreiche Flüssigkeit, die natürlich vor der Verwendung mit NaCl isotonisch zu machen ist, auch nicht im geringsten antihämolytisch zu wirken.

Die Bakterien im destillierten Wasser unterscheiden sich von den im Serum zurückgebliebenen jedoch sehr wesentlich dadurch, daß die letzteren mit aus dem Normalkaninchenserum stammenden Ambozeptoren beladen sind, deshalb eine hohe Affinität zum Komplement besitzen und so dieses von den sensibilisierten Erythrocyten ablenken können. Für diese Erklärung spricht die schon oben erwähnte Tatsache, daß bei der Filtration der antagonistischen Sera die antihämolytische Wirkung abnimmt, als auch, daß bei Verwendung mehrfacher Multipla der einfach komplettierenden Komplementdosis das antagonistische Serum die Hämolyse nicht mehr zu behindern vermag.

Wir haben schon in früheren Arbeiten eine derartige Erklärung für die antagonistische Wirkung im Organismus mit guten Gründen als

unzulänglich erwiesen. Ein Blick auf die vorstehenden Tabellen beweist wieder, daß antagonistische Wirkung im Organismus und antihämolytische Wirkung im Reagenzglas keineswegs parallel gehen. Ja mehrfach zeigten gerade diejenigen Serumquoten, die vermöge ihrer Vorbehandlung eine Einbuße an antihämolytischer Qualität erhalten hatten, besonders starke antagonistische Wirkung. Das geht z. B. aus Tabelle II hervor, wo die auf 60° erhitzten Sera keine antihämolytische Wirkung, wohl aber noch deutlichen antagonistischen Effekt aufweisen, noch mehr aber aus Tabelle III, in der das in seiner antihämolytischen Wirkung gegenüber dem zentrifugierten deutlich schwächere, nach der Ausfällung noch filtrierte Kaninchenserum eine 5mal stärkere antagonistische Kraft entfaltet als die entsprechende nur zentrifugierte Quote.

Dieser letztere Versuch ist für die Auffassung der antagonistischen Substanzen von hoher Bedeutung. Er zeigt besonders eklatant, daß diese Wirkung nicht, wie wir bereits in den früheren Publikationen betont haben, durch die im antagonistischen Serum von der Ausfällung her noch zurückgebliebenen beladenen Bakterienleibessubstanzen bedingt sein kann. Deren Menge mußte ja im zentrifugierten Serum bedeutend höher sein als in der nach dem Zentrifugieren noch durch eine Liliputkerze gejagten Quote. Im Gegenteil, man könnte zu der Auffassung kommen, daß dieses Moment vielmehr gerade noch die antagonistische Wirkung wenigstens teilweise verdeckt, weil ja die nach der Ausfällung beim Zentrifugieren zurückbleibenden Bakterien, reichlich mit Normalambozeptor beladen, eine den Ablauf der Lyse begünstigende Ambozeptorquelle bilden müssen<sup>1</sup>).

Durch das Filtrieren aber werden diese Ambozeptorträger zurückgehalten und deshalb vermag ein derartiges ausgefälltes Serum seine antagonistischen Eigenschaften besser zu entfalten.

Fassen wir nach dieser Abschweifung noch einmal die Resultate unserer Untersuchung zusammen, so ergibt sich folgendes:

Ausgefällte Normalkaninchensera besitzen unter Bedingungen, wie sie denen im antagonistischen Versuch entsprechen, häufig eine mehr weniger ausgesprochene antihämolytische Wirkung; diese Wirkung ist jedoch nicht auf Komplementbindung seitens eines sich bildenden Präzipitates im Gayschen Sinne zurückzuführen, da die antihämolytische Wirkung auch ohne Zusatz von Präzipitin (Choleraimmunserum) in quantitativ völlig gleicher Weise eintritt.

Wahrscheinlich handelt es sich um eine Komplementablenkung durch mit Normalambozeptoren beladene Bakterienrückstände im antagonistischen Serum.

Dieses Moment kommt jedoch für die antagonistische Wirkung ausgefällter Sera im Tierversuch sicher nicht in Betracht.

Denn 1) besteht kein Parallelismus zwischen antihämolytischer Wirkung *in vitro* und antagonistischer Wirkung im Organismus; 2) wirken ausgefällte Sera nach möglicher Entfernung jeglichen Restes von beladenen Bakterien durch Filtration unter Umständen stärker antagonistisch als vorher.

1) Wir haben sehr häufig beobachtet, daß längere Zeit zentrifugierte Bakterien leichter als Normalbakterien der Bakteriolyse unterliegen. Offenbar findet in dieser Tatsache eine durch das Zentrifugieren der Bakterien bedingte Schädigung ihrer Vitalität ihren Ausdruck.

## Ueber natürliche und künstliche Aggressine.

[Aus dem kgl. Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin. Direktor:  
Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Gaffky.]

Von Dr. Julius Citron.

Das außerordentlich verschiedene Verhalten der Bakterien im Tierkörper ist eine Tatsache, die jedem Experimentator bekannt ist. Während manche Mikroorganismen in kleinster Dosis bei jedem Infektionsmodus, ja selbst beim Auftragen auf die unversehrte Haut (Pest bei Meerschweinchen) eine tödliche Infektion auslösen können, gibt es andererseits Bakterienarten, die selbst in großen Dosen keinen nennenswerten Einfluß auszuüben vermögen. Diese großen Verschiedenheiten zu erklären, ist vielfach versucht worden. Die neueste Theorie, die von Bail (1) aufgestellt worden ist, sucht in Anlehnung an die Auffassung von Kruse und Deutsch in gewissen von den Bakterien im Kampfe mit dem Organismus ausgeschiedenen Substanzen, „Aggressinen“, die Waffen, mit denen die Bakterien die natürlichen Schutzkräfte des Organismus lahmlegen. Hierdurch werden die Bakterien befähigt, sich uneingeschränkt im Tierkörper vermehren zu können und dort ihre deletäre Wirkung zu entfalten. Je nach der Fähigkeit der Bakterien nun, Aggressine zu produzieren, teilt Bail die Bakterien in drei große Gruppen:

- 1) die Ganzparasiten,
- 2) die Halbparasiten,
- 3) die Saprophyten.

Die Ganzparasiten, zu denen die Pestbacillen für Mensch und Ratte, die Schweineseuche für Kaninchen und Mäuse, die Hühnercholera für Hühner und Kaninchen u. a. gehören, sind die aggressivsten, d. h. hier können schon die kleinsten Mengen, ja ein einziges lebendes, virulentes Bakterium den Tod auslösen. Zu den Halbparasiten rechnet Bail Cholera und Typhus, d. h. Bakterien, die für unsere Versuchstiere erst in einer bestimmten Dosis tödlich wirken, während darunterliegende Mengen vertragen werden. Die Saprophyten endlich entbehren der Aggressivität unter gewöhnlichen Verhältnissen fast ganz, sie können deshalb den natürlichen Schutzkräften keinen Widerstand bieten und werden vom Organismus zerstört.

Diese von Bail angenommenen Aggressine müssen sich natürlich an dem Orte der Infektion am stärksten finden. Und in der Tat gelang es diesem Forscher, bei Meerschweinchen, die intraperitoneal infiziert worden waren, im, von lebenden Bakterien befreiten, sterilen Peritonealexsudat Eigenschaften nachzuweisen, die mit der „Aggressintheorie“ in Einklang zu stehen scheinen. Diesen sterilen Exsudaten oder „natürlichen Aggressinen“ kommen nach Bail (2) folgende Qualitäten zu:

1) Unter dem Einflusse aggressiver Flüssigkeiten werden sonst untödtliche Bakterienmengen zu tödlichen.

2) Bei Anwendung einfach tödlicher Bakterienmengen wird sowohl der Infektionsverlauf als der Sektionsbefund ein anderer, und zwar schwererer als nach der Bakterienzahl allein zu erwarten wäre.

3) Aggressive Flüssigkeiten beeinträchtigen die schützende Wirkung bakteriolytischer Immunsera.

4) Vorbehandlung von Tieren mit völlig keimfreien aggressiven Flüssigkeiten erzeugt eine Immunität, die sicher nicht bakterizid ist.

Wassermann und Verfasser (3) konnten nun kurze Zeit nach dem Erscheinen der ersten Mitteilung Bails über die Aggressine zeigen, daß die erste Eigenschaft, die man als die Grundeigenschaft der Aggressine ansehen kann, weil aus ihr sich die anderen alle ableiten lassen, in gleicher Weise durch in vitro mittels normalen Serums oder destillierten Wassers aus lebenden Bakterien hergestellte Extrakte resp. durch steriles Exsudat oder Serum, in dem die Bakterien gewachsen waren, erreichen läßt. Hiermit war an die Stelle der Bailschen Annahme, daß die Aggressine im Kampf mit dem Organismus neu gebildete Bakterienstoffe sind, die Auffassung gesetzt worden, daß es sich hier um in den Bakterien vorgebildete Substanzen handelt.

Diese „künstlichen Aggressine“ sind inzwischen mehrfach der Gegenstand der Kritik geworden. Ein Teil der gegen unsere Auffassung erhobenen Einwände, so insbesondere die von Weil (4) aufgestellte Forderung, den Nachweis zu führen, daß es mittels der künstlichen Aggressine auch gelingt, echte Immunität gegen Ganzparasiten zu erzeugen, ist durch inzwischen bereits erschienene Publikationen schon erledigt, indem ich (5) zeigen konnte, daß man mittels „künstlicher Aggressine“ Kaninchen bis zur vieltausendfach tödlichen Dosis von Schweineseuche aktiv und passiv immunisieren kann. Andere Streitpunkte harren jedoch noch der Widerlegung. So wendet Bail (2) gegen uns ein, daß die auf verschiedenem Wege von uns erzeugten Aggressine nicht gleichwertig seien. Die durch Wachsen von Bakterien in Serum oder sterilen Pleuraexsudaten erzeugten künstlichen Aggressine mögen den natürlichen analog sein. Die durch Schütteln im normalen Serum oder in destilliertem Wasser erzeugten Bakterienextrakte dagegen seien anders zu beurteilen.

Hierzu ist folgendes zu bemerken. Es ist richtig, daß die auf verschiedenem Wege gewonnenen Bakterienextrakte nicht völlig identisch sind. Es ist nach unserer Auffassung, daß es sich bei den Aggressinen um ausgelaugte Bakteriensubstanzen handelt, eigentlich selbstverständlich, daß je nach dem Lösungsmittel die Eigenschaften des Bakterienextraktes sich ändern müssen. Es ist von vornherein unwahrscheinlich, daß Exsudatflüssigkeit und Kaninchenserum sich dem destillierten Wasser vollkommen gleich verhalten werden, d. h. aus den Bakterien die gleichen Substanzen in gleichen Mengenverhältnissen extrahieren werden. Worauf es uns ankam, war nur der Nachweis, daß es sich bei den Aggressinen nicht um eine im Kampf mit dem Organismus neugebildete, sondern um vorgebildete Substanzen handelt, die nicht nur im Tierkörper, sondern auch in vitro in die umgebende Flüssigkeit hinein gelangen können. Welcher Natur diese Substanzen sind, ist völlig dunkel. Wichtig ist aber, daß kein prinzipieller und genereller Unterschied zwischen den natürlichen Aggressinen und unseren Bakterienextrakten besteht. Die Unterschiede sind mehr quantitativer als qualitativer Art und sehr von dem Bakterium abhängig, das zur Herstellung benutzt wird. Der morphologische Bau sowie die chemische Zusammensetzung der Bakterien sind sehr wechselnd. Manche Bakterien haben Membranen, die den Zutritt der lösenden Flüssigkeit resp. den Austritt der wahrscheinlich kolloidalen Aggressine erschweren oder gar unmöglich machen. Wieder andere Mikroorganismen sind mit einer Wachsschicht umgeben wie die Tuberkelbacillen. Alles Momente, die bei der Herstellung künstlicher Aggressine entscheidend ins

Gewicht fallen. Hierzu kommt, daß wir nicht wissen, in welcher Form die immunisierende Substanz in den Bakterien vorhanden ist. Auch hier mögen weitgehende Unterschiede zwischen den einzelnen Arten bestehen. Wir kennen ferner nicht den Einfluß, den Zeit und Temperatur und Nährsubstrat auf das Aggressin ausüben, müssen aber annehmen, daß dies alles Dinge sind, die bedeutungsvoll sind. Endlich scheint es nach unseren bisherigen Erfahrungen, als ob wirksame Aggressive sich nur aus lebenden Bakterien extrahieren lassen, wodurch eine neue Schwierigkeit entsteht, indem viele Mikroorganismen, wie die Meningokokken, schon unter optimalen Bedingungen während der Extraktion schwer am Leben zu erhalten sind und natürlich unter anderen Verhältnissen sehr schnell absterben. Hierdurch kann der Charakter der extrahierten Stoffe wesentlich geändert werden, indem jetzt auch die Substanzen, die wie die agglutinable Substanz aus toten Bakterien sich leichter gewinnen lassen, in die umgebende Flüssigkeit treten. Aber die hier gekennzeichneten Schwierigkeiten finden sich mehr oder weniger auch im Tierkörper. Auch hier gelingt es nicht, von jeder Art wirksame Aggressive zu erhalten, ja auch das gleiche Bakterium gibt in der gleichen Tierart durchaus nicht immer gleichwertige Aggressive. Manche Bakterien, wie die Diphtheriebacillen, versagen im Tierkörper sogar ganz; sie vermehren sich dort nicht recht und erzeugen demgemäß, wie Bail (2) angibt, auch keine natürlichen Aggressive. Desto bemerkenswerter ist es, daß es nach unserem Verfahren gelingt, gut wirksame künstliche Diphtherieaggressive zu erzeugen, wie noch unveröffentlichte Versuche, die auf Anregung und unter Leitung von Herrn Prof. Wassermann von Dr. Jobling ausgeführt wurden, beweisen.

Was endlich die von Bail betonte Aenderung des Infektionsverlaufes bei gleichzeitiger Injektion von Kultur und Aggressin und das Verhalten der Leukocyten dabei betrifft, so können die künstlichen Aggressive die gleiche Eigenschaft der „negativen Chemotaxis“ entfalten. Wir haben die Erscheinung der Verzögerung des Zellzuflusses, der Behinderung der Phagocytose und der dadurch bewirkten Erleichterung der Vergiftung durch die Bakterien auch beobachtet, ohne jedoch darin die wichtigste Eigenschaft der Aggressive erblicken zu können, wie es Bail (6) tut. Der wässrige Meningokokkenextrakt, dessen Aggressivität außerordentlich gering ist, zeigt die oben beschriebene Aenderung des Infektionsverlaufes ziemlich regelmäßig und recht charakteristisch.

Von sehr zahlreichen Versuchen, die ich ausgeführt habe, sei nur folgender hier kurz angeführt (s. Tabelle p. 233).

In anderen Fällen unterschied sich der Sektionsbefund der durch die Kombination Meningokokkenextrakt + Meningokokken getöteten Meerschweinchen insofern von dem oben beschriebenen, als man die Bauchhöhle steril oder nahezu frei von Meningokokken fand. Auch hier war die auffallend geringe Leukocytose bemerkenswert, die in dem ziemlich reichlichen, klaren Exsudat war. Es entspricht dieses Bild ganz dem einer Vergiftung. Man ersieht aus diesen Versuchen sehr deutlich, wie die bei einfach tödlichen Dosen meist vorhandene, oft recht starke Phagocytose der Meningokokken durch die Injektion des wässrigen Meningokokkenextraktes gehemmt wird. Ein Einfluß der Leukocytenbehinderung auf den Verlauf und die Schwere der Infektion soll nicht in Abrede gestellt werden; berücksichtigt man aber den Umstand, daß der Meningokokkenextrakt nur außerordentlich wenig aggressiv ist, daß er hier z. B. die Dosis letalis von 2 Oesen nur auf  $1\frac{1}{2}$  Oesen herab-

## Versuch I.

No.	Wässriger Meningokokken- extrakt	Kultur	Ausgang	Bemerkungen
1. Meerschweinchen	—	9. XII. 05. 1½ Oese Meningok. intra- peritoneal	lebt	—
2. Meerschweinchen	—	9. XII. 05. 2 Oesen Meningok. intra- peritoneal	10. XII. †	Leber ist voller Fi- brinbeläge. Starke Leukocytose (poly- morphkernige Zel- len); gute Phago- cytose. Vereinzelte freie Meningo- kokken
3. Meerschweinchen	9. XII. 3,0 künstl. Aggres- sin subkutan	9. XII. 1½ Oese Meningok. intra- peritoneal (½ Std. später)	10. XII. †	Auf der Leber eine einzige Fibrin- flocke. Mäßig starke Leuko- cytose, geringe Phagocytose, sehr zahlreiche freie Me- ningokokken
4. Meerschweinchen	9. XII. desgl.	9. XII. desgl.	10. XII. †	Leber frei von Fi- brin. Geringe Leu- kocytose, fast gar keine Phagocytose, zahlreiche freie Me- ningokokken
5. Meerschweinchen	9. XII. desgl.	—	lebt	—

zudrücken vermag, so kann angesichts der starken Hemmung der Phagocytose, die wir gleichzeitig finden, keine rechte quantitative Beziehung zwischen der Stärke der Aggressivität und der „negativen Chemotaxis“ gefunden werden.

Dementsprechend beweisen die Versuche von Weil und Nakayama (8), welche die Beeinflussung der Phagocytose der Subtilisbacillen durch Subtilisaggressin und durch wässrigen Bakterienextrakt studierten und Unterschiede in der Wirkung von natürlichem und künstlichem Aggressin konstatierten, nur, daß bei dieser einen Bakterienart im Tierkörper leicht und sicher antileukocytaire Stoffe in Lösung gehen, während destilliertes Wasser hierzu wenig geeignet erscheint. Daß Differenzen zwischen auf verschiedenem Wege hergestellten Aggressinen vorkommen, ist eine Beobachtung, die ich selbst oft gemacht habe, und ich habe in meiner Arbeit über die „Immunisierung gegen die Schwemmeuse“ ausdrücklich darauf hingewiesen. Die Tatsache indessen, daß unsere künstlichen Aggressive mit den natürlichen Bails in ihrer praktischen Wirkung auf den tierischen Organismus bei allen von uns daraufhin untersuchten Infektionen übereinstimmen, steht fest. Sie setzen die Dosis letalis herab, sie immunisieren aktiv und sie erzeugen ein wirksames Serum in den Fällen, in denen es das natürliche Aggressin tut, und sie versagen andererseits, wenn das natürliche Aggressin versagt (Schweinepestimmunisierung von Kaninchen), worauf ich in einer in der Zeitschr. f. Hyg. im Druck befindlichen Arbeit näher eingehe. Wir waren nicht im stande, bei irgend einem dieser Punkte



einen grundsätzlichen Unterschied zwischen den künstlichen und natürlichen Aggressinen zu finden.

Das ausschlaggebende Moment für die Beurteilung, ob die von Wassermann und mir hergestellten Bakterienextrakte aggressinhaltig sind, muß in der Immunisierungsmöglichkeit gegen Ganzparasiten gesehen werden; darin stimme ich Bail und Weil (9) vollkommen zu, und gerade die von Weil bearbeitete Immunität der hämorrhagischen Septikämieerreger ist so recht geeignet, als Experimentum crucis zu dienen. Die künstlichen Aggressine haben aber gerade diese Probe glänzend bestanden; denn die von Bail und Weil (9) aufgestellte These, daß der Erreger der Schweineseuche kein echter Parasit sei, kann angesichts des Umstandes, daß die Dosis von  $\frac{1}{100000}$  Oese unseres Stammes IV bei intravenöser Applikation Kaninchen in 24 Stunden tötet, kaum aufrecht erhalten werden. Die Mißerfolge, die Bail und Weil bei der Hühnercholera hatten, dürften darauf zurückzuführen sein, daß die Herstellung der künstlichen Aggressine dort schwerer sein mag.

Was nun das Wesen der durch Bakterienextrakte erzeugten Immunität betrifft, so sind auch hier keine rechten Unterschiede zur Aggressinimmunität zu erkennen. Bail (2) weist darauf hin, daß bei aggressinimmunen Tieren sich die injizierten Krankheitserreger nicht nur halten, sondern sich sogar vermehren können, ohne freilich dem Tiere weiter zu schaden. Diese Beobachtung stimmt mit meinen eigenen vollkommen überein. Auch bei durch künstliches Aggressin immunisierten Tieren findet sich aber gleiches.

#### Versuch II.

1. Kaninchen. 23. V. 1905. 6,0 ccm künstliches Serumaggressin von Hogcholera subkutan
  6. VI. 1. Infektion:  $\frac{1}{4}$  Oese Hogcholera subkutan.
  14. VI. Tier ist munter, hat an der Infektionsstelle ein Infiltrat.
  20. VI. Das Infiltrat vergrößert sich.
  13. VII. Allmählich ist ein sehr großer Absceß entstanden, der von selbst aufbricht.
  20. IX. Der Absceß besteht unverändert und zeigt keine Neigung zum Heilen.
  2. Infektion:  $\frac{1}{10}$  Oese Hogcholera intravenös.
  20. X. Tier ist munter. Der Absceß besteht unverändert.
  20. XI. Der gleiche Befund. Das Tier wird getötet. In dem Absceßeiter finden sich lebende, vollvirulente Hogcholerabacillen.

#### Kontrollen:

2. Kaninchen. 6. VI. 1905. Infektion:  $\frac{1}{4}$  Oese Hogcholera subkutan.
  12. VI. +.
3. Kaninchen. 20. IX. 1905. Infektion:  $\frac{1}{10}$  Oese Hogcholera intravenös.
  25. IX. +.

Aus diesen Versuchen ergibt sich, daß bei dem durch Injektion von künstlichem Aggressin aktiv immunisierten Kaninchen die Hogcholera-bakterien sich  $5\frac{1}{2}$  Monate hindurch lebend und virulent erhalten haben. Also auch in diesem Punkte ist das Verhalten von natürlichem und künstlichem Aggressin dasselbe. Nun entfaltet aber das Serum von mit künstlichem Aggressin vorbehandelten Tieren, wie andere Versuche lehren, den Hogcholerabacillen gegenüber auch die gleichen Wirkungen wie das durch Bakterieninjektion von Rindern oder Pferden gewonnene bakterizide Schweinepestserum. Wir sehen im Pfeifferschen Versuche deutliche Bakteriolyse auftreten. Diese ist zwar nicht so vollkommen wie bei Cholera, sondern mehr der bei Typhus vergleichbar. Diese Be-

obachtungen müssen uns in der Ansicht bestärken, daß es sich in allen diesen Fällen um die gleiche Form der Immunität handelt.

Etwas ganz anderes ist es, ob es zweckmäßig ist, diese Immunität mit dem Namen der „bakteriziden Immunität“ zu benennen. Dieser Name ist im wesentlichen von den Beobachtungen abgeleitet, die man bei Ausführung des Pfeifferschen Versuches macht, und trifft bei anderer Anordnung nur unvollkommen zu. Auch bei der ja zweifellos unter die Rubrik der sogenannten bakteriziden Immunität fallenden Typhus- und Choleraimmunität finden wir die „Bacillenträger“, obwohl das Blut höchste bakterizide Titer haben kann. Daß bei den menschlichen Bacillenträgern die Bakterien sich zumeist im Darm, bei unserem Kaninchenbacillenträger sich im subkutanen Gewebe aufhalten, ist kein wesentlicher Unterschied, sondern nur eine Folge der verschiedenen Infektionsweise. Die Immunkörper im Serum sind ein Index, der, wenn er positiv ist, uns beweist, daß der Organismus im Sinne der Immunisierung reagiert hat, wenn er aber negativ ist, keineswegs „lokale Immunität“ ausschließt. Es sind dies Verhältnisse, auf die Wassermann und ich (7) bereits gelegentlich unserer Untersuchungen über die Bildungsstätten der Typhusimmunkörper hingewiesen haben und auf die ich deshalb hier nur kurz verweisen möchte.

Was endlich nun das Wesen des Aggressins und ihrer Wirkung betrifft, so haben weitere Versuche die von Wassermann und mir (3) bereits in unserer 1. Mitteilung geäußerte Ansicht, daß es sich um Bakterienextrakte handelt, welche die Schutzstoffe des Organismus binden, wesentlich gestützt.

Versetzt man nämlich in vitro Aggressin mit einer bestimmten Menge Normalserum, so kann man eine deutliche Komplementbindung nachweisen. Natürliche und künstliche Aggressine zeigen nur quantitative Differenzen hierbei. Von wesentlichem Einflusse scheint das Alter der Bakterienextrakte zu sein. Wir wissen, daß mit der Zeit eine Aenderung der Eigenschaften solcher Extrakte stattfindet, daß z. B. die präzipitable Substanz sehr leicht zu Grunde geht resp. Veränderungen eingeht, die das Zustandekommen sichtbarer Präzipitation nach Zusatz von Präzipitin verhindern kann. Zweifellos bleibt es jedoch nicht bei dieser einzigen Veränderung in den Extrakten; auch die anderen Eigenschaften ändern sich und im Tierversuch läßt sich leicht demonstrieren, daß auch die virulenzsteigernde Eigenschaft mit dem zunehmenden Alter sich vermindert.

Zeigt schon das einfache Versetzen von Komplement mit natürlichen resp. künstlichen Aggressinen, daß es sich in beiden Fällen um die Wirkung gelöster Bakterien-substanz handelt, so wird dieses noch deutlicher, wenn man den Versuch etwas modifiziert.

Setzt man nämlich zu einer Aggressinmenge, die selbst kein Komplement mehr binden kann, das entsprechende inaktive Immunserum, so verbindet sich der Ambozeptor mit den „freien Rezeptoren“ des Extraktes; fügt man jetzt Komplement hinzu, so muß dieses gebunden werden. Man kann die Komplementbindung deutlich machen dadurch, daß man nach einer gewissen Zeit inaktives hämolytisches Serum und entsprechendes Blut hinzufügt. Das Ausbleiben der Hämolyse ist der Index. Dieses Verfahren, das zuerst Bordet und Gengou (10) zum Nachweis von Ambozeptoren benutzt haben, ist in letzter Zeit

durch die Arbeiten von Moreschi (11), Gay (12), Neisser und Sachs (13), sowie von Wassermann und Bruck (14) geprüft worden. Wassermann und Bruck konnten insbesondere den Nachweis führen, daß die Bildung eines mechanischen Präzipitats unwesentlich ist, und daß es sich hier um echte Ambozeptorwirkung handelt. Diese Auffassung hat durch eigene Versuche, die Herr Prof. Wassermann und ich angestellt haben, eine wesentliche Stütze erfahren, indem sich dabei zeigte, daß im normalen Serum von Kaninchen sich für Glykogen, Albumosen und Peptone komplementbindende Antikörper, d. h. Ambozeptoren finden, während Präzipitine fehlen.

Untersucht man nun sogenanntes bakterizides Serum einerseits und andererseits ein Antiaggressin, so kann man in beiden Fällen Ambozeptoren nachweisen. Beide Sera können sowohl im künstlichen wie im natürlichen Aggressin die passenden Rezeptoren finden.

Die folgenden Versuche zeigen dies in klarster Weise. Zum Verständnis der Experimente sei bemerkt, daß als Bakterienextrakte möglichst alte Aggressine benutzt werden, in denen die präzipitable Substanz die oben erwähnte Modifikation eingegangen war. Damit fällt von vornherein der Einwand, daß hier Präzipitationen vorliegen können. Als Sera dienten polyvalentes Schweinepest- resp. Schweineseuchens Serum aus der Fabrik von Gans in Frankfurt a. M., sowie das Serum einer Ziege, welche viele Monate hindurch mit natürlichem Schweinepest-aggressin, das vom Kaninchen stammte, vorbehandelt war. Als Komplement wurde frisches Meerschweinchen Serum in der Dosis von 0,08 ccm verwandt. Das zur Benutzung kommende hämolytische Serum wurde von einem Kaninchen, das mit Ziegenblut vorbehandelt war, entnommen. Die Versuchsanordnung war so, daß zuerst Bakterienextrakt, Immuns Serum resp. Antiaggressin und Komplement gemischt wurden und dann auf 1 Stunde in den Brutschrank kamen. Dann wurde das hämolytische Serum und das Ziegenblut zugesetzt, das Ganze gut durchgeschüttelt und für 2 Stunden in den Thermostaten, hierauf auf 24 Stunden in den Eisschrank gebracht. Selbstverständlich wurden stets entsprechende Kontrollen gemacht.

Alles Nähere ergeben die folgenden Tabellen (p. 237 u. 238).

Das Ergebnis dieser Versuche ist die Bestätigung unserer von allem Anfang an vertretenen Anschauung, daß

- 1) die Aggressine Bakterienextrakte sind;
- 2) daß die Antiaggressine Sera sind, die die gleichen Qualitäten wie die durch Bakterieninjektionen gewonnenen Sera haben;
- 3) daß die infektionsbefördernde Wirkung der Aggressine auf ihrer die natürlichen Schutzkräfte bindenden Fähigkeit beruht, wobei wir unter den natürlichen Schutzkräften auch die Leukocyten, welche ja die Hauptquelle der Komplemente sind, verstehen.

Die Fähigkeit der Aggressine, die schützende Wirkung von Immunsris aufzuheben, die sie mit den antagonistischen Seris von Pfeiffer und Friedberger (15) und unseren künstlichen Aggressinen teilen, erklärt sich leicht und ungezwungen durch die Vereinigung des Ambozeptors mit den Bakterien Substanzen und der daraus resultierenden Bindung des Komplementes in vivo.

## Versuch III.

Bakterienextrakt	Serum	Komplement	Hämolytisches Serum	Blut	Ausgang
1,0 ccm (14 Tage altes) wässriges Hogcholeraaggressin	—	0,08 ccm Meer-schwein-chenserum	0,01 ccm für 1 ccm 5-proz. Ziegenblut hä-molyt. inaktiv. Kaninchen-serum	desgl.	Deutliche Hemmung d. Hämolyse
0,5 ccm desgl.	—	desgl.	desgl.	desgl.	komplette Hämolyse desgl.
0,1 ccm desgl. 0,1 ccm desgl.	— 0,01ccm Anti-aggressin v. der Ziege	desgl. desgl.	desgl. desgl.	desgl. desgl.	0 (vollkom-mene Hem-mung der Hämolyse)
0,1 ccm desgl.	0,01ccm poly-valentes Schweine-pestserum	desgl.	desgl.	desgl.	minimale Hämolyse
0,01 ccm desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	starke Hem-mung
1,0 ccm (4 Woch. altes) seröses Hogcholeraag-gressin	—	desgl.	desgl.	desgl.	0
0,5 ccm desgl. 0,1 ccm desgl.	— —	desgl. desgl.	desgl. desgl.	desgl. desgl.	0 deutliche Hemmung
0,01 ccm desgl.	—	desgl.	desgl.	desgl.	komplette Hämolyse
0,01 ccm desgl.	0,01 ccm Anti-aggressin	desgl.	desgl.	desgl.	starke Hem-mung
0,01 ccm desgl.	0,01 ccm poly-valentes Schweine-pestserum	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.
1,0 ccm (5 Mon. altes) natür-liches Hog-choleraaggres-sin I	—	desgl.	desgl.	desgl.	schr geringe Hemmung
0,5 ccm desgl.	—	desgl.	desgl.	desgl.	komplette Hämolyse
0,1 ccm desgl. 0,1 ccm desgl.	— 0,01ccm Anti-aggressin	desgl. desgl.	desgl. desgl.	desgl. desgl.	desgl. starke Hem-mung
0,1 ccm desgl.	0,01 ccm poly-valentes Schweine-pestserum	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.
1,0 ccm (3 Mon. altes) natür-liches Hog-choleraaggres-sin III	—	desgl.	desgl.	desgl.	geringe Hem-mung
0,1 ccm desgl.	—	desgl.	desgl.	desgl.	komplette Hämolyse
0,1 ccm desgl.	0,01ccm Anti-aggressin	desgl.	desgl.	desgl.	0

Bakterienextrakt	Serum	Komplement	Hämolytisches Serum	Blut	Ausgang
0,1 ccm (3 Mon. altes) natürliches Hogcholeraaggressin III 0,01 ccm desgl.	0,01ccm polyvalentes Serum desgl.	0,08 ccm Meer-schweinchenserum desgl.	0,01 ccm für Ziegenblut hämolyt. inaktiv. Kaninchen-serum desgl.	1 ccm 5-proz. Ziegenblut desgl.	0 deutliche Hemmung
Kontrolle I	0,01ccm Anti-aggressin	desgl.	desgl.	desgl.	komplette Hämolyse
Kontrolle II	0,01ccm polyvalentes Serum	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.
Kontrolle III	—	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.

## Versuch IV.

Bakterienextrakt	Serum	Komplement	Hämolytisches Serum	Blut	Ausgang
1 ccm (4 Mon. altes) natürliches Schweineseuchenaggress. 0,5 ccm desgl.	—	0,08 ccm Meer-schweinkomplement desgl.	0,01 ccm für Ziegenblut hämolyt. Kaninchen-serum desgl.	1 ccm 5-proz. Ziegenblut desgl.	starke Hemmung der Hämolyse geringe Hemmung
0,1 ccm desgl.	—	desgl.	desgl.	desgl.	komplette Hämolyse
0,1 ccm desgl.	0,01ccm polyvalentes Schweineseuchenserum	desgl.	desgl.	desgl.	starke Hemmung
1,0 ccm (6 Woch. altes) natürl. Schweineseuchenaggress. 0,5 ccm desgl.	—	desgl.	desgl.	desgl.	starke Hemmung
0,1 ccm desgl.	—	desgl.	desgl.	desgl.	deutliche Hemmung
0,1 ccm desgl.	0,01ccm polyvalentes Serum	desgl.	desgl.	desgl.	minimale Hemmung 0
Kontrolle I	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	komplette Hämolyse
Kontrolle II	—	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.

Ob sich nicht die durch künstliche und natürliche Aggressine erzeugte aktive Immunität dadurch besonders auszeichnet, daß infolge der im vorhergehenden bewiesenen Komplementbindung neben der Mehrproduktion von Ambozeptoren auch eine Mehrproduktion von Komplementen stattfindet, können erst weitere Untersuchungen lehren.

Bei unserer Auffassung der Aggressinwirkung bietet auch die Erklärung der von v. Pirquet und Schick (16) betonten Analogie zwischen der „Serumkrankheit“ und der Aggressinwirkung keine Schwierigkeit mehr, wissen wir doch durch die Untersuchungen von Pfeiffer und Moreschi (17), daß auch bei der Injektion von fremdem Serum Komplementbindung in vivo stattfinden kann.

Zum Schluß endlich möchte ich mich noch gegen den von Bail und Weil erhobenen Vorwurf wenden, als ob wir uns in unseren Arbeiten über die Aggressinimmunität in einen Widerspruch gegen die von Wassermann und mir früher betonte Wichtigkeit des Immunisierens mit lebenden Krankheitserregern gesetzt hätten. Das Gegenteil ist der Fall. Wir haben gerade den Nachweis geführt, daß die allein echte Immunität auslösende Substanz nicht an den Bakterienleib gebunden ist, sondern sich nach dem von Wassermann und mir geübten Verfahren eben in Lösung bringen läßt. Das Immunisieren mit unseren aus den lebenden Bakterien gewonnenen Extrakten resp. mit den natürlichen Aggressinen ist im Prinzip identisch mit der Immunisierung durch lebende Bakterien.

#### Literatur.

- 1) Bail, O., Untersuchungen über Typhus- und Choleraimmunität. (Arch. f. Hyg. Bd. LII. 1905.)
- 2) —, Beziehungen zwischen Aggressivität und Leibessubstanz von Bakterien. (Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 39 40.)
- 3) Wassermann, A. und Citron, J., Zur Frage der Bildung von bakteriellen Angriffstoffen im lebenden Organismus. (Dtsche med. Wochenschr. 1905. No. 28.)
- 4) Weil, E., Arch. f. Hyg. Bd. LIV. 1905.)
- 5) Citron, Julius, Ueber die Immunisierung mit Exsudaten und Bakterienextrakten. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XL. 1905. p. 153.) — Die Immunisierung gegen Schweineseuche mit Hilfe von Bakterienextrakten. Ein Beitrag zur Aggressinfrage. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. LII. 1906.)
- 6) Bail, O., Untersuchungen über die Aggressivität des Cholera vibrio. (Arch. f. Hyg. Bd. LIII. 1905.)
- 7) Wassermann, A. und Citron, J., Ueber die Bildungsstätten der Typhusimmunkörper. Ein Beitrag zur Frage der lokalen Immunität der Gewebe. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. L. 1905.) — Die lokale Immunität der Gewebe und ihre praktische Wichtigkeit. (Dtsche med. Wochenschr. 1905. No. 15.)
- 8) Weil, E. und Nakayama, H., Die Phagocytosebehinderung des Subtilis durch das Subtilisaggressin. (Berl. klin. Wochenschr. 1906. No. 3.)
- 9) Bail, O. und Weil, E., Unterschiede zwischen aggressiven Exsudaten und Bakterienextrakten. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XL. 1906. Heft 3.)
- 10) Bordet et Gengou. Annales de l'Inst. Pasteur. T. XV. 1901. p. 289.) Gengou, Ebenda. Bd. XVI. 1902.
- 11) Moreschi, Berl. klin. Wochenschr. 1905. No. 37.
- 12) Gay, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX. 1905. p. 603. — Annales de l'Inst. Pasteur. T. XIX. 1905. p. 593.
- 13) Neisser und Sachs, Berl. klin. Wochenschr. 1905. No. 44.
- 14) Wassermann und Bruck, Med. Klinik. 1905. No. 55.
- 15) Pfeiffer und Friedberger, Deutsche med. Wochenschr. 1905.
- 16) v. Pirquet und Schick, Zur Frage des Aggressins. (Wien. klin. Wochenschr. 1905. No. 17.)
- 17) Pfeiffer und Moreschi, Berl. klin. Wochenschr. 1906.

*Nachdruck verboten.*

## Weitere Untersuchungen über den Mechanismus der Agglutination und Präzipitation.

### I. Teil.

[Aus dem k. k. hygienisch-bakteriologischen Institute der Universität Krakau. Vorstand: Prof. O. Bujwid.]

Von Dr. **Philipp Eisenberg**, Assistenten am Institute.

Mit 3 Figuren.

(Schluß.)

### 2. Sind Agglutinine komplexe Körper?

Im weiteren Verlaufe der Untersuchungen erwies es sich als notwendig, die Frage zu erörtern, ob die Ehrlichsche Theorie, wonach die Agglutinine Haptine zweiter Ordnung sind, und die durch die Experimente von Eisenberg und Volk, Wassermann u. A. gestützt wurde, weiter aufrecht zu erhalten ist, oder aber ob an ihre Stelle die Ansicht von Bail zu setzen wäre, der sie als komplexe Körper, d. h. Haptine dritter Ordnung anspricht. Es muß wohl auffallend erscheinen, daß im Verlaufe von 4 Jahren, die seit dem Erscheinen der Bailschen Arbeit verflossen sind, niemand es unternommen hat, die darin enthaltenen sehr interessanten und für die Theorie der Agglutination höchst bedeutsamen Befunde nachzuprüfen. Die Untersuchungen über den Mechanismus der Hämolyse und Bakteriolyse zeigten uns in diesen Vorgängen den Typus von Prozessen, die vielleicht am geeignetsten synergetische Prozesse zu nennen wäre. Weitere Untersuchungen haben sodann den Bereich unserer Kenntnisse über derartige Vorgänge bedeutend erweitert, indem sie zeigten, daß alle cytotoxischen Wirkungen, die toxische Wirkung normaler Sera, ihre gefäßverengende Wirkung (Vasokonstriktine von Batelli), die Zusammenwirkung von Pankreassaft und Enterokinase oder anderen Kinasen bei der Eiweißverdauung, sowie bei der Hämolyse, das Zusammenwirken von Schlangengift mit Lecithin bei der Hämolyse auf denselben Wirkungstypus zurückzuführen sind. Endlich bildet die von Landsteiner und Jagić festgestellte Zusammenwirkung von kolloidaler Kieselsäure und Lecithin bei der Hämolyse ein Bindeglied zwischen diesen Vorgängen und physikalisch-chemischen Vorgängen an bekannten Kolloiden und läßt uns mutmaßen, daß wir hier eine Erscheinung von allgemeinerer Bedeutung vor uns haben. Es wäre daher um so mehr erwünscht zu erfahren, ob die Agglutination und die mit ihr verwandten Prozesse der Koagulation und Präzipitation ebenfalls den synergetischen zuzurechnen sind und welches der Mechanismus dieser Zusammenwirkung wohl sein könnte.

Bevor ich jedoch über meine eigenen in dieser Richtung angestellten Versuche Rechenschaft gebe, möchte ich einige Worte über die Technik der Bailschen Versuche, sowie den daraus gezogenen Schlüssen widmen und dadurch zugleich einige Abweichungen in der Technik meiner Nachprüfungen rechtfertigen. Vor allem halte ich die Begrenzung der Beobachtungszeit auf 2 Stunden bei 37° C für einseitig und unzweckmäßig; im Falle, wo die Agglutination fortschreitet, kann man ein Resultat als negativ betrachten, das bei weiterer Beobachtung zu einem positiven

geworden wäre. In einem Falle wiederum, wo Agglutinationshemmung und zwar teilweise eintritt, kann man die Hemmung bei 2-stündiger Versuchsdauer für vollkommen halten, während sie dann einer Agglutination Platz macht. Mit anderen Worten, man läuft bei dieser Methode Gefahr, daß Zeitunterschiede im Verlauf der Erscheinungen als qualitative Wesensunterschiede imponieren. Wenn z. B. im I. Versuch von Bail die Bouillonbakterien eine vollständige Agglutination nach  $\frac{3}{4}$  Stunden aufweisen, die Exsudatbakterien aber keine, so darf man noch nicht von einer charakteristischen Unempfindlichkeit der Exsudatbakterien gegenüber Agglutininen sprechen, denn nach 5 Stunden zeigen ja alle Proben vollkommene Reaktion. An diese Bemerkung schließt sich noch eine andere, nicht minder wichtige. Um nachzuweisen, daß die Agglutination auf dem Zusammenwirken zweier Körper des Agglutinophors und des Hemiagglutinins von Bail müßte man zeigen, daß keiner dieser Körper für sich allein im stande ist, die Erscheinung hervorzurufen. Das ist wenigstens die typische Form der Ehrlich-Morgenrothschen Versuche betreffs der Hämolyse, derjenigen Versuche, die zum Ausgangspunkt für alle Untersuchungen über synergetische Vorgänge geworden sind und deren theoretische Deutung die Grundlage der Bailschen Hypothese bildet. Es ist nun wichtig festzustellen, daß von 6 Peritonealexsudaten, die Bail bei seinen diesbezüglichen Versuchen verwendet hat, fünf an und für sich auch ohne Agglutinophorenzusatz agglutiniert haben, wenn auch schwächer und später, als mit diesem Zusatz. Bezüglich des sechsten tritt wieder die oben hervorgehobene Einschränkung in ihr Recht, daß eine nach 2 Stunden beendete Beobachtung zu der Behauptung nicht berechtigt, das betreffende Exsudat sei für sich ganz inaktiv (wie dies übrigens durch weiter unten anzuführende Befunde bewiesen wird). Wenn man also exakt sein will, kann man hier nur von einer Beschleunigung oder Verstärkung der Reaktion sprechen, nicht aber davon, daß durch Zusammenwirkung zweier Körper eine Erscheinung hervorgerufen wird, zu deren Aktivierung keiner dieser Körper für sich allein genügt.

In meinen eigenen Versuchen habe ich Peritonealexsudate von Meerschweinchen oder Kaninchen verwendet, denen entweder Typhus-agarauflschwemmungen von verschiedenen Stämmen in Bouillon oder reine Bouillon oder Stärkebouillon, menschliche Ascitesflüssigkeit oder endlich Filtrate von älteren Bouillonkulturen *B. typhi*, *Staphylococcus pyog. aur.*, *B. pyocyaneum*, *B. fluorescens putidum*, *B. mesentericus vulgatus*, *B. tuberculosis hom.* und zwar 5—25 ccm bei Meerschweinchen, 5—40 ccm bei Kaninchen intraperitoneal eingespritzt wurden. Die Tiere wurden entweder durch Verbluten nach  $1\frac{1}{2}$ —18 Stunden getötet oder aber es wurde das Exsudat nach spontan erfolgtem Tode in derselben Zeit gesammelt. Die Exsudate stellten mehr oder minder spontan gerinnende Flüssigkeiten dar; um die Entstehung von Fibringerinnseln in den Proben selbst zu verhüten, wurden die Exsudate nach 1—3-stündigem Aufenthalt im Brutofen durch Schlagen mit einem Platindraht defibriniert. Die Anordnung der Versuche war möglichst einfach und klar und basierte auf der prinzipiellen Problemerkfassung, wie sie oben auseinandergesetzt wurde. Nach Möglichkeit habe ich immer den Proben recht große Exsudatmengen zugesetzt, weil orientierende Versuche mich belehrt hatten, daß ihre komplementäre Wirkung, wenn überhaupt vorhanden, nur schwach ausgesprochen ist. In den Versuchen, wo Bakterienauflschwemmung ein-



gespritzt worden war, erwies sich weiterer Zusatz von Bakterien zu den eigentlichen Proben als unnötig, sonst wurden immer einige Tropfen einer dichten Aufschwemmung zugesetzt (das Volumen dieses Zusatzes wurde beschränkt, um das Exsudat möglichst wenig zu verdünnen). Das Volumen der Proben war, wie bei diesen Versuchen überhaupt, konstant und betrug 30 resp. 40 Tropfen, wovon der Exsudatzusatz  $\frac{3}{4}$ — $\frac{7}{8}$  ausmachte. In jedem Versuch wurde die Anstellung folgender Kontrollen für nötig erachtet, um ein einwandfreies Resultat zu gewährleisten: 1) eine negative Probe der Einwirkung von inaktiviertem Serum auf die Bakterien, 2) eine negative Probe der Einwirkung von Exsudat für sich auf die Bakterien, 3) eine negative Kontrolle von Bakterienaufschwemmung mit physiologischer NaCl-Lösung, die die Annahme einer Pseudoagglutination ausschließen mußte. Aus den schon oben erörterten Gründen wurden die Proben nach 2—3-stündigem Aufenthalt im Brutschrank sowie nach Ablauf von 24 Stunden bei Zimmertemperatur beobachtet.

Aus den zahlreichen Versuchen (es gelangten die Exsudate von ca. 60 Meerschweinchen und 10 Kaninchen zur Untersuchung) sei folgender als Typus eines positiven Resultats herausgegriffen:

Tabelle III. (Prot. No. 40a. 16. Dezbr. 1903.)

Typhusserum vom Pf. No. 37 vom 7. Oktober 1903 mit  $\text{CHCl}_3$  versetzt, 1 Stunde auf  $62^\circ \text{C}$  erhitzt. Exsudat vom Meerschw. No. 27 (ca. 20 ccm Filtrat von B. fluor. pud. intraper.; nach 5 Std. verblutet; aus dem Peritoneum ca. 35 ccm schwach trüben und schwach gerinnbaren Exsudates). Sehr dichte Kochsalzaufschwemmung einer Agarkultur von B. typhi Z. Allgem. Volumen der Proben = 30 Tropfen.

Inaktiv.-Ser.	Exsudat	Physiol. NaCl Tropfen	Bakt.-Aufschw.	Resultat nach	
				2 Std.	24 Std.
2 = $\frac{1}{15}$	25 = $\frac{5}{6}$	0	3	st. Sp.	u. v.
1 = $\frac{1}{30}$	"	1	3	u. v.	u. v. +
2 = $\frac{1}{75}$	"	0	3	u. v.	u. v.
1 = $\frac{1}{150}$	"	1	3	st. Sp.	u. v.?
2 = $\frac{1}{300}$	"	0	3	Sp.	u. v.?
1 = $\frac{1}{600}$	"	1	3	Sp.	st. Sp.
2 = $\frac{1}{900}$	"	0	3	Sp.	st. Sp.
2 = $\frac{1}{15}$	0	25	3	k.	k.
1 = $\frac{1}{30}$	0	26	3	k.	k.
2 = $\frac{1}{75}$	0	25	3	k.	k.
1 = $\frac{1}{150}$	0	26	3	k.	Sp.?
2 = $\frac{1}{300}$	0	25	3	k.	Sp.
1 = $\frac{1}{600}$	0	26	3	k.	Sp.?
2 = $\frac{1}{900}$	0	25	3	k.	Sp.?
0	25 = $\frac{5}{6}$	2	3	k.	k.
0	0	27	3	k.	k.

Bezüglich des in der Tabelle wiedergegebenen Resultates seien folgende Bemerkungen angeführt: In Fällen, wo das Exsudat selbst Bakterien enthält, muß die Kontrolle der Unwirksamkeit des erhitzten Serums an einer Bakterienaufschwemmung angestellt werden, deren Dichte derjenigen des Exsudates gleichkommt; wir wissen nämlich, daß beim Erhitzen von Immunseris eine Hemmungs- oder Proagglutinoidzone entsteht, deren Ausdehnung mit dem Grad der Erhitzung wächst und für jedes Serum von der zu den Proben verwendeten Bakterienmenge bestimmt wird. Es kann nun ein fast inaktiviertes Serum ganz inaktiv erscheinen, wenn es auf eine geringe Menge von Bakterien einwirkt

(Hemmung), dagegen in denselben Verdünnungen noch als wirksam sich erweisen, wenn wir eine größere Bakterienmenge verwenden. Andererseits ist nach meinen Erfahrungen die Temperatur, bei der das Serum inaktiviert wird, für den Ausgang des Versuchs durchaus nicht irrelevant. Bei der Mehrzahl meiner Versuche mit Typhusbakterien habe ich ein mit Chloroform versetztes Pferdetyphusserum verwendet. Während nun das durch 1-stündiges Erhitzen auf 62–63° C inaktivierte Serum positive Resultate gibt, erzielt man mit dem auf 75° C (durch 1 Stunde in Verd.  $\frac{1}{10}$ ) erhitzten nur minimale oder gar keine Resultate, wie aus Tab. IV erhellt.

Tabelle IV.

Serum. Exsudat wie in Tab. III. A Serum 1 Std. auf 62–63° C erh. B dass. 1 Std. auf 75° C erh.

Inaktiv. Ser.	Exsudat	Physiol. NaCl Tropfen	Bakter.-Aufsch.	A		B	
				nach 2 Std.	24 Std.	nach 2 Std.	24 Std.
2 = $\frac{1}{150}$	25	0	3	st. Sp.	u. v.	k.	k.
1 = $\frac{1}{300}$	25	1	3	Sp.	u. v.	k.	k.

Die Erörterung der Ursache für dieses besondere Verhalten sei vorläufig dem nächsten Abschnitt vorbehalten, wo wir es wieder bei der Agglutinoidhemmung antreffen werden. Auch die Menge der zum Versuch verwendeten Bakterienaufschwemmung, i. e. die Konzentration der agglutinierbaren Substanz in den Proben ist für das Resultat dieser Versuche von ausschlaggebender Bedeutung, wie Tab. V deutlich zeigt.

Tabelle V. (Prot. No. 28. 12. Aug. 1904.)

Serum vom Pf. No. 37. 20. Novbr. 1903. 1 Std. auf 64° C erh. Exsudat vom M. No. 44 (20 ccm Bouillonfiltrat von Staphyloc. pyog., B. intraper.; nach 6 Std. entblutet; ca. 45 ccm schwach getrübbten, nicht gerinnenden Exsudates).

Inaktiv. Ser.	Exsudat	Physiol. NaCl Tropfen	Bakt.-Aufschw.	Resultat nach 24 St.
4 = $\frac{1}{8}$	24	0	4	k.
2 = $\frac{1}{16}$	24	2	4	Sp.
1 = $\frac{1}{32}$	24	3	4	u. v.
4 = $\frac{1}{80}$	24	0	4	u. v.
2 = $\frac{1}{160}$	24	2	4	Sp.?
1 = $\frac{1}{320}$	24	3	4	k.
4 = $\frac{1}{8}$	24	3	1	k.
2 = $\frac{1}{16}$	24	5	1	k.
1 = $\frac{1}{32}$	24	6	1	k.
4 = $\frac{1}{80}$	24	3	1	k.
2 = $\frac{1}{160}$	24	5	1	k.
1 = $\frac{1}{320}$	24	6	1	k.
0	24	5	1	k.
0	0	26	4	k.
0	0	29	1	k.

Wir sehen in diesem Versuch die auffallende Erscheinung, daß die Agglutination bei der größeren Bakterienmenge auftritt, dagegen bei der geringeren ausbleibt, während auf Grund der quantitativen Beziehungen zwischen Agglutinin und agglutinierbarer Substanz gerade das Gegenteil davon zu gewärtigen wäre. Wo ist nun die Erklärung für dieses eigentümliche Verhalten zu suchen? Im ersten Teil des Ver-

suchs tritt sehr deutlich das in der Agglutinationsliteratur als „paradoxes Phänomen“ oder „Proagglutinoidzone“ bekannte Phänomen hervor, dem in der Cytotoxinlehre das Neisser-Wechsbergsche Phänomen entspricht. Dieser Erscheinung begegnen wir konstant bei allen Versuchen über die komplementäre Wirkung von Exsudaten, so in Tab. III und in den weiter unten anzuführenden Protokollen. Wenn man die Bailsche Hypothese vom komplexen Aufbau der Agglutinine acceptiert, wird die Analogie dieses Verhaltens mit dem Neisser-Wechsbergschen Phänomen vollkommen. Es ist nun bekannt und experimentell bewiesen, daß sowohl bei diesem Phänomen als auch bei den paradoxen Reihen der Agglutination die Bakterienmenge in engem Zusammenhange mit der Ausdehnung der Hemmungszone steht: je geringer diese Menge, desto größer die Zone. Es wird also dort, wo selbst bei beträchtlicher Bakterienmenge die Hemmung sehr deutlich auftritt, wie etwa in Tab. V, dort wird bei geringerer Bakterienmenge die Hemmung vollkommen werden, d. h. die Agglutination ganz ausbleiben. In anderen Fällen wiederum, wo die Hemmung schwächer ist, werden wir nur quantitative Unterschiede bei variierender Bakterienmenge zu erwarten haben, was Tab. VI bestätigt.

Tabelle VI. (Prot. No. 38a. 12. Dezbr. 1903.)

Typhusserum vom Pf. No. 37. 7. Oktbr. 1903. 1 Std. auf 62° C erh. Exsudat von M. No. 22 (10 ccm Bouillonfiltrat von B. typhi, Z. intraper.; nach 10 Std. entblutet; ca. 10 ccm klaren schwach gerinnenden Exsudates werden gewonnen).

Inaktiv. Ser.	Exsudat	Physiol. NaCl	Bakt.-Aufschw.	Resultat nach	
Tropfen				2 Std.	24 Std.
2 = $\frac{1}{15}$	25	2	1	k.	Sp.
1 = $\frac{1}{30}$	25	3	1	Sp.	st. Sp.
2 = $\frac{1}{75}$	25	2	1	st. Sp.	u. v.
1 = $\frac{1}{150}$	25	3	1	Sp.	u. v.?
2 = $\frac{1}{300}$	25	2	1	Sp.	u. v.?
1 = $\frac{1}{600}$	25	3	1	Sp.	u. v.?
2 = $\frac{1}{900}$	25	2	1	Sp.	st. Sp.
0	25	4	1	k.	k.
0	0	29	1	k.	k.
2 = $\frac{1}{15}$	25	0	3	u. v.	u. v.
1 = $\frac{1}{30}$	25	1	3	u. v. +	f. v.
2 = $\frac{1}{75}$	25	0	3	u. v. +	u. v. +
1 = $\frac{1}{150}$	25	1	3	u. v.	u. v.
2 = $\frac{1}{300}$	25	0	3	st. Sp.	u. v.
1 = $\frac{1}{600}$	25	1	3	Sp.	st. Sp.
2 = $\frac{1}{900}$	25	0	3	Sp.	st. Sp.
0	25	2	3	k.	k.
0	0	27	3	k.	k.

Für die Richtigkeit der auseinandergesetzten Deutung spricht folgender Versuch (Tab. VII), welcher zwischen beiden soeben dargestellten Grenztypen die Mitte einnimmt und der infolge der großen Differenz der in beiden Parallelreihen verwendeten Bakterienmengen ein recht charakteristisches Bild bietet. Wir finden hier bei der geringeren Bakterienmenge eine bedeutende Hemmung im oberen Teil der Reihe (bei  $\frac{1}{160}$ ), positive Reaktion nur in den zwei untersten Verdünnungen in der Reihe, bei der dichteren Aufschwemmung haben wir dagegen positive Reaktionen im oberen Teil, negative im unteren wohl infolge des quantitativen Mißverhältnisses zwischen Agglutinin und Bakterienmenge.

Tabelle VII. (Prot. No. 199. 17. März 1905.)

Ruhrserum aus dem pharm. Labor. L. W. Gans 1 Std. auf 60° erh. B. dysenteriae, St. Nepustil (von St. A. Dr. Śulda in Krakau). Exsudat von M. No. 50 (20 ccm Filtrat B. tuberc. hom. intrap.; nach 6 Std. entblutet; ca. 35 ccm klares, schwach gerinnendes Exsudat gewonnen).

Inaktiv. Ser.	Exsudat	Physiol. NaCl	Bakt.-Aufschw. Tr.			
Tropfen			1		8	
			Resultat nach		Resultat nach	
			2 Std.	24 Std.	2 Std.	24 Std.
2 = $\frac{1}{20}$	30	auf 40 Tr. aufgefüllt.	k.	k.	Sp.	u. v.
1 = $\frac{1}{40}$	30		k.	k.	u. v.	u. v. +
2 = $\frac{1}{60}$	30		k.	Sp.?	k.	u. v.?
1 = $\frac{1}{80}$	30		k.	Sp. +	k.	st. Sp.
2 = $\frac{1}{160}$	30		k.	st. Sp.	k.	k.
1 = $\frac{1}{320}$	30		k.	st. Sp.	k.	k.
0	30		k.	k.	k.	k.
2 = $\frac{1}{20}$	0		k.	k.	Sp.?	Sp. +
1 = $\frac{1}{40}$	0		k.	k.	k.	Sp. +
2 = $\frac{1}{60}$	0		k.	k.	k.	Sp.?
1 = $\frac{1}{80}$	0		k.	k.	k.	k.
2 = $\frac{1}{160}$	0		k.	k.	k.	k.
1 = $\frac{1}{320}$	0		k.	k.	k.	k.
0	0		k.	k.	k.	k.

Außer der Bakterienmenge beeinflusst auch die Proportion des zugesetzten Exsudats das Resultat dieser Versuche, wie schon oben beiläufig erwähnt wurde. Die komplementäre Wirkung der Exsudate pflegt gewöhnlich schwach zu sein, selbst wenn sie  $\frac{3}{4}$ — $\frac{7}{8}$  des Volumens der Proben ausmachen, wird aber noch schwächer oder verschwindet sogar ganz, wenn man eine geringere Menge davon zusetzt (Tab. VIII).

Die bis jetzt vorgeführte Anordnung der Versuche, die synergetische Wirkung der Exsudate mit inaktiviertem Serum dartun sollen, ist jedoch nicht die einzig mögliche. Wenn die Vorstellung von Bail betreffs der Konstitution der Agglutinine richtig ist, könnte man sich vorstellen, daß zum regelmäßigen Ablauf einer absteigenden Agglutinationsreihe ein gewisses quantitatives Verhältnis beider synergetischer Faktoren, d. h. des Agglutinophors und des Hemiagglutinins von Bail nötig ist. Es könnte jedoch in manchen Seris eine Störung dieses Verhältnisses vorliegen und zwar entweder durch Ueberschuß des „Hemiagglutinins“ (wie es Bail beschreibt), oder aber durch Ueberschuß der „Agglutinophore“, was den von Eisenberg und Volk, Pick, Asakawa u. a. beschriebenen paradoxen Reihen an alten oder chemisch modifizierten Seris entsprechen würde. In letzterem Fall, d. h. bei Ueberschuß von „Agglutinophoren“, wird der Zusatz von „Hemiagglutinin“-haltigem Exsudat nach zwei Richtungen wirken können. In den höchsten Konzentrationen, wo durch den Ueberschuß der „Agglutinophore“ Hemmung eintritt, wird dieser Zusatz das Mißverhältnis zwischen „Agglutinophoren“- und „Hemiagglutinin“-Menge verringern oder aufheben und dadurch die Hemmungszone kleiner werden oder verschwinden lassen. In den höchsten Verdünnungen dagegen, wo bei noch genügender Anzahl von „Agglutinophoren“ diejenige der „Hemiagglutinine“ unzureichend ist, um Agglutinine hervortreten zu lassen, wird der Zusatz von Exsudat diesem Mangel abhelfen und dadurch die Wirkungssphäre des Serums vergrößern. Folgendes Schema — es beansprucht natürlich nichts mehr als ein Schema zu sein — mag diese Verhältnisse ver-

Tabelle VIII. (Prot. No. 32. 23. Novbr. 1903.)

Typhusserum vom Pf. No. 37. 7. Oktbr. 1903. 1 Std. auf 62° C erh. Exsudat von M. No. 12 (1 Typhusagarkultur in 8 ccm Bouillon intraper.; nach 4 Std. entblutet; ca. 25 ccm trüben, kaum gerinnenden Exsudats gewonnen).

Inaktiv. Ser.	Exsudat	Physiol. NaCl	Resultat nach	
Tropfen			2 Std.	24 Std.
5 = $\frac{1}{8}$	25	0	k.	Sp.
2 = $\frac{1}{15}$	28	0	k.	st. Sp.
1 = $\frac{1}{30}$	29	0	st. Sp.	u. v.
6 = $\frac{1}{50}$	24	0	st. Sp.	u. v.
3 = $\frac{1}{100}$	27	0	st. Sp.	u. v.
2 = $\frac{1}{150}$	28	0	st. Sp.	u. v.
1 = $\frac{1}{300}$	29	0	st. Sp.	st. Sp.
6 = $\frac{1}{500}$	24	0	st. Sp.	st. Sp.
4 = $\frac{1}{750}$	26	0	Sp.	st. Sp.
3 = $\frac{1}{1000}$	27	0	Sp.?	Sp.
0	30	0	k.	Sp.?
5 = $\frac{1}{8}$	15	10	k.	k.
2 = $\frac{1}{15}$	15	13	k.	k.
1 = $\frac{1}{30}$	15	14	k.	k.
6 = $\frac{1}{50}$	15	9	feinste Fl.	Sp.
3 = $\frac{1}{100}$	15	12	f. Fl.	Sp.
2 = $\frac{1}{150}$	15	13	feinste Fl.	Sp.
1 = $\frac{1}{300}$	15	14	k.	Sp.?
6 = $\frac{1}{500}$	15	9	k.	k.
4 = $\frac{1}{750}$	15	11	k.	k.
3 = $\frac{1}{1000}$	15	12	k.	k.
0	15	15	k.	k.
5 = $\frac{1}{8}$	6	19	k.	k.
2 = $\frac{1}{15}$	6	22	k.	k.
1 = $\frac{1}{30}$	6	23	k.	k.
6 = $\frac{1}{50}$	6	18	k.	k.
3 = $\frac{1}{100}$	6	21	k.	k.
2 = $\frac{1}{150}$	6	22	k.	k.
1 = $\frac{1}{300}$	6	23	k.	k.
6 = $\frac{1}{500}$	6	18	k.	k.
4 = $\frac{1}{750}$	6	20	k.	k.
3 = $\frac{1}{1000}$	6	21	k.	k.
0	6	24	k.	k.

anschaulichen. Es werde der Einfachheit halber angenommen, das betreffende Serum enthalte in der Volumeinheit in konzentriertem Zustande 20 „Agglutinophoren“-Moleküle und 10 „Hemiagglutinin“-Moleküle, ein Bakterium besitze 10 Rezeptoren, von denen mindestens 2 von fertigen, komplexen Agglutininmolekülen besetzt werden müssen, damit Agglutination eintritt. Wirkt nun das Serum in konzentriertem Zustande auf das Bakterium ein, so werden die 10 freien „Agglutinophore“ seine Rezeptoren besetzen dank ihrer größeren Affinität, die restlichen 10 mit „Hemiagglutininen“ zu fertigen Agglutininmolekülen vereinigten werden an das Bakterium nicht herantreten und folglich auch keine Agglutination hervorrufen können — also Hemmungszone oder Präzone von Buxton. Nehmen wir nun das Serum 5mal verdünnt, so haben wir 4 „Agglutinophore“, davon 2 mit „Hemiagglutininen“ zu Agglutinin vereinigt und 2 freie; alle werden an den Bakterienrezeptoren Platz finden, Agglutination wird eintreten. Nehmen wir endlich die Verdünnung  $\frac{1}{10}$ , so haben wir darin ein „Agglutinophor“ mit einem „Hemiagglutinin“ zu einem Agglutininmolekül vereinigt, ein Agglutinophor dagegen frei. Bei Einwirkung auf das Bakterium werden wohl zwei Rezeptoren besetzt,

aber nur einer mit komplettem Agglutinin — Agglutination bleibt also aus — die sogenannte Postzone von Buxton. Geben wir nunmehr zu den drei verschiedenen Verdünnungen dieses Serums eine konstante Menge Exsudat, d. h. nach Bail eine Anzahl von freien „Hemiagglutinin“-Molekülen, z. B. fünf, zu und überlegen wir an der Hand unseres Schemas, welche Veränderungen im Agglutinationsbild eintreten können. Im ersten Fall werden die fünf Hemiagglutininmoleküle an fünf an die

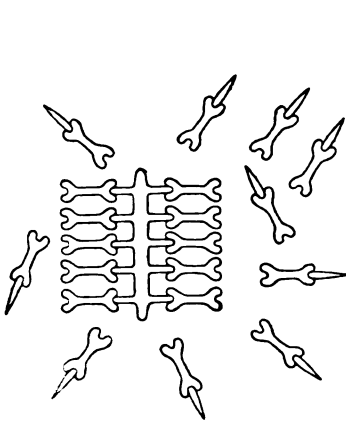


Fig. I.

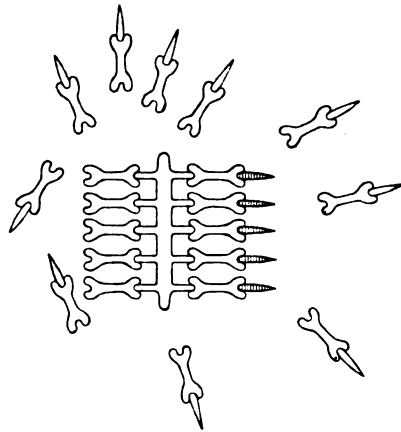


Fig. I A.

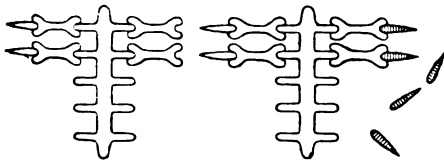


Fig. II.

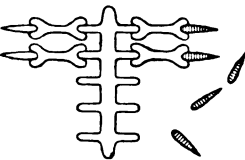


Fig. II A.

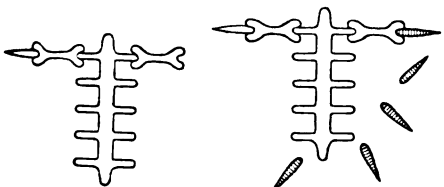


Fig. III.

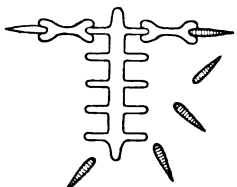
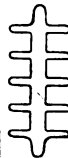


Fig. III A.

Zeichenerklärung.



Bakterium mit 10 Rezeptoren.



Agglutinophoren-molekül.



Hemiagglutininmolekül des Serums.



Hemiagglutininmolekül des Exsudats.

Fig. I. Serumverdünnung  $\frac{1}{1}$ . Fig. II. Serumverdünnung  $\frac{1}{6}$ . Fig. III. Serumverdünnung  $\frac{1}{10}$ . Fig. I A, II A, III A. Dieselben nach Exsudatzusatz.

Rezeptoren verankerte Agglutinophore herantreten, sich mit zu Agglutinen vereinigen und auf diese Weise die Hemmung aufheben. Im zweiten Falle wird natürlicherweise am sichtbaren Resultate nichts sich ändern können. Im dritten endlich wird von den fünf „Hemiagglutinin“-Molekülen eins an das am Bakterium verankerte Agglutinophor herantreten und es zu Agglutinin ergänzen, wodurch nun, nachdem jetzt zwei Rezeptoren mit Agglutininen besetzt sind, Agglutination eintritt und die betreffende Verdünnung geht aus der Postzone in die aktive mittlere Zone über, d. h. der Wirkungswert des Serums steigt. Versuche, die auf

Grund dieser Ueberlegungen angestellt wurden, gaben ein mehr oder minder ausgeprägtes positives Resultat.

Tabelle IX. (Prot. No. 193a. 14. März 1905.)

Ruhrserum von L. W. Gans.  $1\frac{1}{2}$  Jahre mit 0,5-proz. Karbol konserviert. B. dysenteria St. Nepustil. Exsudat vom M. No. 45 (15 ccm Filtrat von B. tuberc. hom. intraper.; nach 7 Std. entblutet; ca. 30 ccm klares, schwach gerinnendes Exsudat).

Inaktiv. Ser.	Physiol. NaCl Tropfen	Bakt.-Aufschw.	Physiol. NaCl 30 Tr.		Exsudat 30 Tr.	
			Resultat nach		Resultat nach	
			2 Std.	24 Std.	2 Std.	24 Std.
8 = $\frac{1}{5}$	0	2	st. Sp.	f. v.	st. Sp.	f. v.
4 = $\frac{1}{10}$	4	2	u. v. +	f. v.	f. v.	f. v.
2 = $\frac{1}{20}$	6	2	f. v.	v.	f. v.	v.
1 = $\frac{1}{40}$	7	2	v.	v.	v.	v.
8 = $\frac{1}{80}$	0	2	v.	v.	v.	v.
4 = $\frac{1}{160}$	4	2	v.	v.	v.	v.
2 = $\frac{1}{320}$	6	2	v.	v.	v.	v.
1 = $\frac{1}{640}$	7	2	u. v. +	f. v.	u. v. +	f. v.
8 = $\frac{1}{1280}$	0	2	st. Sp.	f. v.	u. v.	f. v.
4 = $\frac{1}{2560}$	4	2	Sp.	u. v.	st. Sp.	u. v. +
2 = $\frac{1}{5120}$	6	2	k.	st. Sp.	Sp.	u. v.
1 = $\frac{1}{10240}$	7	2	k.	Sp.?	Sp.?	u. v.
0	8	2	k.	k.	k.	Sp.?

Ein noch prägnanteres Resultat gab der Zusatz von Exsudat zu einem Pferdetyphusimmunserum, das zwecks Hervorrufung einer Hem-

Tabelle X. (Prot. No. 34. 26. Novbr. 1903.)

Typhusserum vom Pf. No. 37. 7. Oktbr. 1903 1 Std. auf 58° C erh. Exsudat vom M. No. 12 (s. Tab. VIII). Agaraufschw. von B. typhi Z.

Inaktiv. Ser.	Exsudat	Physiol. NaCl Tropfen	Bakt.-Aufschw.	Resultat nach	
				2 Std.	24 Std.
15 = $\frac{1}{2}$	15	0	0	Fl.	st. Sp.
6 = $\frac{1}{5}$	24	0	0	u. v.	u. v.
3 = $\frac{1}{10}$	24	3	0	f. v.	f. v.
2 = $\frac{1}{15}$	24	4	0	f. v.	f. v.
1 = $\frac{1}{30}$	24	5	0	f. v.	v.
6 = $\frac{1}{100}$	24	0	0	f. v.	v.
3 = $\frac{1}{200}$	24	3	0	f. v.	f. v.
2 = $\frac{1}{300}$	24	4	0	u. v.	f. v.
6 = $\frac{1}{400}$	24	0	0	u. v.	u. v.
4 = $\frac{1}{600}$	24	2	0	st. Sp.	u. v.
3 = $\frac{1}{800}$	24	3	0	Sp.	u. v.
2 = $\frac{1}{1200}$	24	4	0	Sp.	u. v.?
0	24	0	0	k.	k.
15 = $\frac{1}{2}$	0	10	5	k.	k.
6 = $\frac{1}{5}$	0	19	5	k.	Sp.?
3 = $\frac{1}{10}$	0	22	5	st. Sp.	u. v.
2 = $\frac{1}{15}$	0	23	5	u. v.	u. v.
1 = $\frac{1}{30}$	0	24	5	u. v.	f. v.
6 = $\frac{1}{100}$	0	19	5	u. v.	u. v.
3 = $\frac{1}{200}$	0	22	5	st. Sp.	u. v.?
2 = $\frac{1}{300}$	0	23	5	Fl.	st. Sp.
6 = $\frac{1}{400}$	0	19	5	k.	Sp.
4 = $\frac{1}{600}$	0	21	5	k.	k.
3 = $\frac{1}{800}$	0	22	5	k.	k.
2 = $\frac{1}{1200}$	0	23	5	k.	k.
0	0	25	5	k.	k.

mungszone erhitzt wurde (Tab. X). In diesem Versuche wurde, da das Exsudat bakterienhaltig war, in der Kontrollreihe der Bakterienzusatz so gewählt, daß die Trübung in beiden Reihen ungefähr die gleiche war.

Ein anderer Versuch dagegen, der mit frischem Typhusserum angestellt wurde, ergab nur eine unbedeutende Steigerung des Serumwertes, wie man übrigens von vornherein erwarten konnte.

Weitere Versuche hatten das Verhältniß des im Exsudat enthaltenen Komplementes zu dem Bakterien zum Inhalt. Wir wissen, daß bei cytolytischen Prozessen nach der Ehrlich-Morgenrothschen Theorie ohne Intervention des Zwischenkörpers das Komplement sich mit der betreffenden Zelle nicht verankern kann. Ich suchte daher zu erfahren, ob in bakterienhaltigen Exsudaten das Komplement (Hemiagglutinin<sup>4</sup> von Bail) in freiem Zustand vorhanden ist, oder an die Bakterien gebunden wird. Zu dem Zweck wurde ein Exsudat, das sich als kompletierungsfähig erwiesen hatte, durch ein Silberschmidtsches Miniaturfilter geschickt und sodann einerseits das Bakterienfiltrat auf seine Kompletierungsfähigkeit untersucht, andererseits zu den auf dem Filter zurückgebliebenen Bakterien inaktives Serum zugesetzt, um zu sehen, ob Agglutination eintreten würde, d. h. ob die Bakterien das Komplement gebunden haben oder nicht. Wie aus Tab. XI zu ersehen ist, hat sich das Filtrat inaktiv gezeigt, dagegen wurden die Bakterien vom Filter agglutiniert, wenn auch schwächer als bei Verwendung des Vollexsudates. Diese Tatsache läßt sich wohl nicht auf Reste des Komplements zurückführen, die mit den Bakterien auf dem Filter zurückgeblieben wären, da wir doch gesehen haben, daß die Aktivität des Exsudats beim Verdünnen stark geschwächt wird, um weiter ganz zu schwinden, es bleibt also wohl nur die Annahme einer chemischen Verbindung oder einer Adsorption — zwei Eventualitäten, die sich noch nicht entscheiden lassen. Zur Klärung der Frage wären vielleicht noch Versuche auszuführen, in denen die Scheidung von Bakterien und flüssigem Anteil des Exsudats durch Zentrifugieren bewerkstelligt würde; man könnte nämlich beim Filtrationsversuch an die Möglichkeit denken, daß das Komplement im Exsudat frei ist, aber das Filter nicht passiert und deshalb ebenso wie die Bakterien am und im Filter bleibt, um

Tabelle XI. (Prot. No. 34, 35. 27. Novbr. 1903.)

Typhusserum vom Pf. No. 37. 7. Oktbr. 1903 1 Std. auf 60° C erh. Exsudat von M. No. 13 (1½ Agarkulturen von B. typhi Z. in 10 ccm Bouillon intraper.; nach 4½ Std. entblutet; es werden ca. 25 ccm trüben, kaum gerinnenden Exsudates gewonnen). Agaraufschwemmung von B. typhi Z.

I.

Inaktiv. Ser.	Exsudat Tropfen	Physiol. NaCl	Resultat nach	
			2 Std.	24 Std.
5 = 1/8	25	0	Sp.	u. v.?
3 = 1/10	25	0	st. Sp.	u. v.
2 = 1/15	25	3	u. v.?	u. v.
1 = 1/30	25	4	u. v.	u. v.
5 = 1/60	25	0	u. v.?	u. v.
3 = 1/100	25	2	st. Sp.	u. v.
2 = 1/150	25	3	st. Sp.	u. v.
1 = 1/300	25	4	Sp.	u. v.?
5 = 1/600	25	0	Sp.?	st. Sp.
3 = 1/1000	25	2	Sp.?	st. Sp.
0	25	5	Sp.?	Sp.



## II.

Inaktiv. Ser.	Filtrat des Exs.	Physiol. NaCl Tropfen	Bakt.-Aufschw.	Resultat nach	
				2 Std.	24 Std.
4 = $\frac{1}{5}$	14	0	2	k.	k.
2 = $\frac{1}{10}$	14	2	2	k.	k.
1 = $\frac{1}{20}$	14	3	2	k.	k.
4 = $\frac{1}{50}$	14	0	2	k.	k.
2 = $\frac{1}{100}$	14	2	2	k.	Sp.?
1 = $\frac{1}{200}$	14	3	2	k.	Sp.?
4 = $\frac{1}{500}$	14	0	2	k.	Sp.?
2 = $\frac{1}{1000}$	14	2	2	k.	Sp.?
0	14	4	2	k.	k.
0	0	18	2	k.	k.

## III.

Inaktiv. Ser.	Aufschw.d.Bakt. v. Filter Tropfen	Physiol. NaCl	Resultat nach	
			2 Std.	24 Std.
5 = $\frac{1}{6}$	10	15	k.	k.
3 = $\frac{1}{10}$	10	17	k.	k.
2 = $\frac{1}{15}$	10	18	k.	Sp.
1 = $\frac{1}{30}$	10	19	k.	u. v.
5 = $\frac{1}{60}$	10	15	Sp.?	u. v.
3 = $\frac{1}{100}$	10	17	Sp.?	u. v.?
2 = $\frac{1}{150}$	10	18	Sp.?	u. v.?
1 = $\frac{1}{300}$	10	19	k.	Sp.
0	10	20	k.	k.
1 = $\frac{1}{20}$	16	3	u. v.	u. v. +
4 = $\frac{1}{60}$	16	0	u. v.	u. v.
2 = $\frac{1}{100}$	16	2	st. Sp.	u. v.
1 = $\frac{1}{600}$	16	3	Sp.	st. Sp.
4 = $\frac{1}{600}$	16	0	Sp.	Sp.

dann mit ihnen zusammen herabgeschwemmt zu werden. Beim Ausschleudern wäre natürlich diese andere Deutung unzulässig und bliebe — einen gleichen Ausfall des Versuchs vorausgesetzt — nur die erstere übrig.

Es war ferner von großer Bedeutung, das Verhalten des Komplements (Hemiagglutinine von Bail) im Exsudat gegenüber erhöhter Temperatur kennen zu lernen, da bei anderen synergetischen Prozessen gerade dieses Verhalten erlaubt hat, die zwei beteiligten Faktoren zu differenzieren. Nach Bail werden seine „Hemiagglutinine“ bei  $\frac{1}{2}$  bis 1-stündigem Erhitzen auf 60° C inaktiviert oder wenigstens stark abgeschwächt. Meine eigenen in dieser Richtung unternommenen Versuche haben ein verschiedenes und zwar wider Erwarten verschiedenes Resultat gezeigt. Infolge des sehr geringen Eiweißgehaltes gerinnen die Exsudate selbst bei Erhitzung auf 100° C nicht, zeigen höchstens eine ganz schwache Opaleszenz. Es ergibt sich dabei, daß das Komplement Temperaturen von 75—80° C ganz schadloß eine Stunde lang verträgt, und daß es bei Temperaturen von 85—95° C progressiv geschwächt wird, um erst bei 100° C zerstört zu werden (Tab. XII). Dieses Resultat war insofern unerwartet, als spezifische Seris schon bei 70 bis 75° C inaktiviert werden, d. h. im Sinne der Bailschen Hypothese das Komplement bei dieser Temperatur unwirksam wird. Wir müssen

jedoch bedenken, daß das Exsudat ein in physikalisch-chemischer Beziehung vom Serum recht verschiedenes Medium darstellt, was das Verhalten der darin enthaltenen spezifischen Körper beeinflussen kann, so dann aber, daß die im Exsudat im freien Zustand vorhandenen Komplemente andere Eigenschaften aufweisen könnten, als die im Serum mit den Zwischenkörpern (Agglutinophoren Bails) verbundenen.

Außer den spezifischen Typhus- und Ruhragglutininen wurden von mir auch die Agglutinine normaler Sera auf ihren komplexen Bau untersucht. Es möge hier ein positives Resultat mit normalem Typhusagglutinin vom Pferd seinen Platz finden (Tab. XIII).

Tabelle XIII. (Prot. No. 46. 2. Dezbr. 1903.)

Normales Pferdeserum Pf. No. 31 1 Std. auf 60° erh. (nach Kontrolle inaktiv). Exsudat von Kan. No. 2 (3 Typhusagarkulturen in 20 ccm Bouillon intraper. nach 3 Std. tot; ca. 18 ccm trübes schwach gerinnendes Exsudat).

Inaktiv. Ser. Tropfen	Exsudat	Resultat nach	
		2 Std.	24 Std.
15 = $\frac{1}{2}$	15	k.	Fl.
10 = $\frac{1}{3}$	20	Fl.	f. v.
5 = $\frac{1}{6}$	25	u. v.?	u. v.
2 = $\frac{1}{15}$	28	Sp.	st. Sp.
1 = $\frac{1}{30}$	29	Sp.?	Sp.
0	30	k.	Sp.?

Tabelle XIII. (Prot. No. 39, 40, 41. 14.—16. Dezbr. 1903.)

Typhusserum vom Pf. No. 37. 7. Oktbr. 1903, 1 Std. auf 62—63° erh. Agaraufschw. von B. typhi Z. Exsudat von M. No. 25. (30 ccm Bouillonfiltrat von B. fluor. put. Z. intraper.; nach 6 Std. entblutet; ca. 50 ccm trübes, gerinnendes Exsudat. Resultat nach 2 Std. und 24 Std.

Inakt. Ser.	Exsudat	Phys. NaCl	Bakt. Aufschw.	Exsudat											
				Tropfen		nicht erhitzt	erh. 1 Std. 75°		erh. 1 Std. 80°		erh. 1 Std. 85°		erh. 1 Std. 90°		erh. 1 Std. 95°
2 = $\frac{1}{15}$	25	0	3	Sp.?	u. v. +	u. v.?	u. v.?	st.Sp.	u. v.	u. v.?	u. v.	u. v.	u. v.	Sp.	u. v.
1 = $\frac{1}{30}$	25	1	3	f. v.	f. v.	u. v.	u. v. +	u. v.	u. v. +	st.Sp.	u. v.	st.Sp.	u. v.?	Sp.?	st.Sp.
2 = $\frac{1}{75}$	25	0	2	u. v.	u. v.	u. v.	u. v.	u. v.?	u. v.	st.Sp.	u. v.	st.Sp.	u. v.?	k.	k.
1 = $\frac{1}{150}$	25	1	3	Sp.	u. v.?	u. v.?	u. v.	Sp.	u. v.?	Sp.	st.Sp.	k.	u. v.?	k.	k.
2 = $\frac{1}{300}$	25	0	3	k.	st. Sp.	Sp.	u. v.?	k.	Sp.	Sp.?	Sp.	k.	st.Sp.	k.	k.
1 = $\frac{1}{600}$	25	1	3	k.	Sp.	Sp.?	Sp.?	k.	k.	k.	k.	—	—	—	—
0	25	2	3	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
0	0	27	3	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.

Außer in den Exsudaten läßt sich noch in seltenen Fällen die Anwesenheit von Komplement in an sich inaktiven Normalseris nachweisen. In meinen Versuchen bin ich meistens auf Sera gestoßen, die an und für sich schon Typhusbakterien in höherem oder geringerem Grade agglutiniert haben, so daß bei Zusammenwirken mit inaktivem Immuns serum höchstens eine gewisse Steigerung des Agglutinationseffektes beobachtet werden könnte (Tab. XIV).

Da nach Bail im ersten Stadium der Infektion die Komplemente (Hemiagglutinine) entstehen, in dem folgenden aber die Zwischenkörper (Agglutinophore) im Ueberschuß gebildet werden, müssen die Bakterien in diesem zweiten Stadium der Wirkung von Agglutininen unzugänglich sein oder wenigstens ihr gegenüber eine verminderte Empfindlichkeit

Tabelle XIV. (Prot. No. 30a. 20. Dezbr. 1903.)

Typhusserum vom Pferd No. 37. 7. Oktbr. 1903 1 Std. auf 62° C erh. Agaraufschw. vom *B. typhi* Z. Normales Meersch.-Ser. No. 7.

Inaktiv. Pferdeser.	Meersch.- Ser. Tropfen	Bakt. Aufschw.	Resultat nach	
			2 Std.	24 Std.
4 = $\frac{1}{5}$	14	2	k.	Sp.?
1 = $\frac{1}{20}$	17	2	Sp.?	Sp.
2 = $\frac{1}{100}$	16	2	Sp.	st. Sp.
1 = $\frac{1}{200}$	17	2	st. Sp.	f. v.
0	18	2	Sp.	st. Sp.

aufweisen. Diese Anschauung ist zunächst einzuschränken, weil, wie schon erwähnt worden, in den betreffenden Versuchen die nach 2 Stunden abgebrochene Beobachtung keine Gewähr bietet, daß die beobachtete Agglutinin-Unempfindlichkeit nicht etwa lediglich eine Verlangsamung der Reaktion ist, wie das übrigens aus den Beobachtungen von Bail selbst herauszulesen ist (p. 321), nach 5 Stunden in allen Proben vollkommene Reaktion!) Wenn man übrigens die Erfahrungen betreffs der Proagglutinoïdhemmung berücksichtigt, wie sie weiter unten dargestellt werden sollen, kann man schon im voraus annehmen, daß angesichts der Bail'schen Versuchsbedingungen nicht leicht eine vollkommene Agglutinin-Unempfindlichkeit auftreten kann. Diese Versuche zeigen nämlich, daß zur Erlangung einer vollständigen Hemmung in vitro auf die Bakterien eine beträchtliche Menge von Proagglutinoiden wirken muß, während bei Einwirkung geringerer Mengen nur eine Schwächung resp. Verzögerung der Reaktion zu erreichen ist. Es fällt nun wohl schwer anzunehmen, daß während der kurzen Dauer der Infektion im Peritoneum eine so bedeutende Menge von Antikörpern (Proagglutinoiden oder Agglutinophoren) entstanden oder daselbst von anderswo eingeschwemmt worden wäre. Mir selbst ist es unter zahlreichen Versuchen nur einmal gelungen, einen deutlichen Unterschied im Verhalten von Exsudat- und Normalbakterien gegenüber Immunserum festzustellen (Tab. XV).

Versuche, eine gewisse Spezifität der Komplementwirkung in dem Sinne, daß etwa Kaninchenexsudat zur Komplettierung von inaktiviertem Kaninchenserum sich besser eignen würde, als zur Komplettierung von inaktiviertem Pferdeimmunserum, zu erweisen, haben bisher zu keinem

Tabelle XV. (Prot. No. 31. 20. Novbr. 1903.)

Typhusserum von Kan. No. 1. 7. Oktbr. 1903. Exsudat von M. No. 8 ( $\frac{1}{4}$  Agarkultur von *B. typhi* P.M. 33 in 5 cem Bouillon intraper.; nach 4 Std. entblutet; ca. 12 cem trübes Exsudat). Agaraufschw. von *B. typhi* P.M. 33 von derselben Dichte wie das Exsudat.

Kaninch.-Ser.	Physiol. NaCl Tropfen	Exsudat	Resultat nach	
			3 Std.	24 Std.
3 = $\frac{1}{10}$	12	15	u. v.	v.
1 = $\frac{1}{30}$	14	15	u. v.?	f. v.
6 = $\frac{1}{100}$	9	15	st. Sp.	u. v.?
3 = $\frac{1}{200}$	12	15	f. Fl.	Sp.
2 = $\frac{1}{800}$	13	15	f. Fl.	Sp.
15 = $\frac{1}{800}$	0	15	f. Fl.?	Sp.
10 = $\frac{1}{1200}$	5	15	f. Fl.?	Sp.
0	15	15	k.	Sp.?

## Kontrolle:

Kaninch.-Ser.	Physiol. NaCl Tropfen	Aufschw. von B. typhi	Resultat nach	
			3 Std.	24 Std.
15 = $\frac{1}{800}$	0	15	u. v.?	f. v.
10 = $\frac{1}{1200}$	5	15	u. v.?	u. v.
0	15	15	k.	k.

eindeutigen Resultat geführt. Nach Erfahrungen an anderen spezifischen Immunkörpern wäre eine solche spezifische Abstimmung bestimmter Komplemente auf bestimmte Zwischenkörper wohl zu erwarten gewesen.

Wenn ich nun, nachdem ich das ganze Tatsachenmaterial vorgeführt habe, meine Stellung gegenüber der Bailschen Theorie präzisieren sollte, so kann ich ihr vor der Hand nicht rückhaltlos beistimmen, wenn auch nicht in Abrede gestellt werden soll, daß eine synergetische Wirkung der Exsudate vorkommt. Es ist nämlich festzustellen, daß zunächst diese Wirkung nicht konstant ist und sich nur an einem Bruchteil der Exsudate demonstrieren läßt, sodann aber, daß man bei vollständig negativen Kontrollproben nie vollständige Reaktion zu sehen bekommt. Weder die Versuche von Bail noch meine eigenen kann ich nach dieser Richtung hin als überzeugend genug betrachten, um auf ihrer Basis den Agglutininen den komplexen Bau der Haptine dritter Ordnung zuzusprechen. Der wichtigste Beweis, nämlich der Nachweis der Existenz beider Körper in spezifischen Seris, wurde bisher von Bail nicht erbracht. Meine eigenen Versuche, in denen ich durch Filtration von Immunseris die Trennung beider Bestandteile zu erreichen suchte, haben kein positives Resultat ergeben. Auch die Hoffnung mittels Absorption durch Bakterien bei niedriger Temperatur den Zwischenkörper (agglutinophor) aus dem Serum zu entfernen, ohne das Komplement (Hemiagglutinin) mitzunehmen, erscheint recht gering, da die Versuche von Asakawa, die ich gemeinsam mit Herrn Dr. K. Habicht bestätigen konnte, zeigen, daß auch bei Temperaturen um 0° C Serum das Komplement resp. die agglutinierende Gruppe des Agglutinins ihre spezifische Wirkung ausüben kann. Jedenfalls wäre das vielleicht noch der einzige Weg, auf dem man diesen Nachweis versuchen könnte. Bis dahin aber muß man meines Erachtens die Frage nach dem Bau der Agglutinine in suspenso lassen.

Die Berücksichtigung der nahen Verwandtschaft der Agglutinationsvorgänge einerseits, derjenigen der Koagulation und Präzipitation andererseits ließ es als geboten erscheinen, die obigen Untersuchungen auch auf diese Vorgänge auszudehnen. Derartige Versuche sind um so schwieriger auszuführen und um so behutsamer zu beurteilen, als sowohl inaktivierte Sera wie auch Exsudate die Tendenz aufweisen, geringe Niederschläge abzusetzen, so daß nur sehr bedeutende Niederschläge in den eigentlichen Proben irgend welche Bedeutung beanspruchen können. Vor allem muß aber vor der Verwendung von Exsudaten gewarnt werden, die nach dem Vorgang von Bail durch Injektion von Stärkebouillon gewonnen werden; solche Exsudate geben mit jedem Serum einen deutlichen Niederschlag — eine in der Eiweißchemie als Kutschersches Phänomen bekannte Erscheinung. Meine Versuche wurden nun in ähnlicher Weise ausgeführt, wie diejenigen mit Agglutininen; anstatt Bakterien wurden den Meerschweinchen oder Kaninchen entweder Filtrate

der betreffenden Bouillonkulturen oder aber Lösungen des betreffenden Eiweißkörpers eingespritzt, sodann wurden zu den auf diese Weise gewonnenen Exsudaten verschiedene Verdünnungen des betreffenden inaktivierten Koagulin- oder Präzipitinserums zugesetzt. Auch hier waren ebenso wie bei den Agglutininversuchen die Resultate entweder negativ oder nur schwach positiv, so daß sie keineswegs zu entscheidenden Aussprüchen über den Bau der Koaguline und Präzipitine berechtigen (s. Tab. XVI).

Tabelle XVI. (Prot. No. 274. 6. Juni 1905.)

Typhusserum von Kan. No. 2 1 Std. auf 60° erh. — dasselbe unerhitzt Exsudat von M. No. 24 (18 ccm Bouillonfiltrat B. typhi Z. intraper.; nach 1½ Std. tot; ca. 30 ccm klaren, schwach gerinnenden Exsudates).

Inaktiv. Ser.	Nicht erh. Ser.	Exsudat	Resultat nach 24 Std.
Tropfen			
30	0	0	Sp. Nied.
25	0	5	Trüb. schw. Nied.
20	0	10	Trüb. schw. Nied.
15	0	15	Trüb. Nied.
10	0	20	Trüb. Nied.
5	0	25	Trüb. Nied.
0	0	30	k.
0	15	15	Trüb. Nied.

Beiläufig mag hier erwähnt werden, daß unter den vielen Versuchen, wo Meerschweinchen oder Kaninchen Bakterienaufschwemmungen (B. typhi, B. dysenteriae Shiga-Kruse, Staphyloc. pyogen.) oder ihre Kulturfiltrate injiziert wurden, in manchen eine Hämolyse in vivo beobachtet werden konnte, die durch rötliche oder rubinrote Färbung des Serums sich kundgab (von Wunschheim bei Anthrax, von Marmorek bei Streptokokken beobachtet). In diesen Versuchen wurde das Blut unmittelbar nach dem Tode aus dem Herzen entnommen und das Koagulum von der Wand der Eprouvette nicht gelöst, damit durch mechanische Zerstörung von roten Blutkörperchen keine künstliche Hämoglobinämie entstände.

Endlich will ich noch hier eine Versuchsreihe besprechen, die den Einfluß von Normalseris auf die spezifische Agglutination beleuchtet. Vor kurzer Zeit hat nämlich de Blasi einen hemmenden Einfluß stark verdünnter Normalsera auf die spezifische Agglutination beschrieben. Bei Nachprüfungen konnte ich zwar diese Tatsache nicht bestätigen, dagegen zeigte es sich, daß solche Sera (Pferde-, Kaninchen- und Meer-

Tabelle XVII.

Typhusserum von Pf. No. 37. 15. Juli 1904. Norm. Meersch.-Ser. No. 1. 5. Juli 1905. Agarauftschw. von B. typhi Z. Resultat nach 2—24 Std.

S. Meer. 1	S. Pf. 37. 1/161. 920		S. Pf. 37. 1/80. 960		S. Pf. 37. 1/40. 480		S. Pf. 37 = 0	
1/20	Fl.	u. v.	u. v.	u. v. +	u. v. +	u. v. +	k.	k.
1/40	Fl.	u. v.	u. v.	u. v. +	u. v. +	u. v. +	k.	k.
1/80	Fl.	u. v. ?	u. v.	u. v. +	u. v. +	u. v. +	k.	k.
1/160	Fl.	u. v. ?	u. v.	u. v. +	u. v. +	u. v. +	k.	k.
1/320	Fl. ?	u. v. ?	u. v.	u. v. +	u. v. +	u. v. +	k.	k.
0	k.	st. Sp.	Fl.	u. v. ?	u. v.	u. v. +	k.	k.

schweinchensera) in Verdünnungen, die an und für sich inaktiv sind, die spezifische Agglutination beschleunigen und zwar vorzugsweise bei Verwendung von Grenzverdünnungen von Pferde- resp. Kaninchentypusserum (s. Tab. XVII). Die nähere Untersuchung dieser Erscheinung bleibt weiteren Versuchen vorbehalten.

Krakau, 15. Oktober 1905.

*Nachdruck verboten.*

## Prophylaktische Vaccination gegen die Cholera in Lodz.

[Aus dem städtischen Laboratorium in Lodz.]

Von Dr. **Serkowski**, Vorsteher des Laboratoriums.

Das Hauptkriterium der Immunisierung des Tieres oder des Menschen ist die Untersuchung der bakteriziden Eigenschaften des Blutes vor der Impfung und 5—8 Tage nach jeder Impfung. Solche Untersuchungen bezwecken, ebenso den Wert der angewendeten Methode nachzuprüfen wie auch die bakteriziden Eigenschaften des Serums der geimpften Personen mit denen des Serums der Rekonvaleszenten zu vergleichen.

Es gibt zwei Methoden der Untersuchung der bakteriziden Eigenschaften des Blutes — in vitro und in vivo. Die Untersuchung in vitro besteht darin, daß mit der verschiedenen bestimmten Menge des untersuchten Serums feste bestimmte Kulturmengen von spezifischen Bakterien und feste bestimmte Mengen normalen Serums (sogenanntes Komplement) in Probiergläsern zusammengemischt werden, dann nach 4—6-stündigem Aufenthalt des Gemisches im Thermostaten aus jedem Probierglas auf Agarplatten ausgegossen und auf 24 Stunden in den Thermostaten gestellt wird. Durch die Zählung der ausgewachsenen Bakterienkolonien wird festgestellt, ob und in welchem Grade die bestimmte

Tabelle I.  
Bakterizider Titer.

No. des Probierglases	Serum	Physiol.	Komplement	Bakterien	Titer = Serum quantum absolutum
1	0,1 Serum	1,6	0,3	1 Oese + 3 Tropfen Bouillon	0,1
2	0,3 A	1,4		1 " + 3 " "	0,06
3	0,1 A	1,6		1 " + 3 " "	0,02
4	0,05 A	1,65		1 " + 3 " "	0,01
5	0,15 B	1,55		1 " + 3 " "	0,006
6	0,05 B	1,65		1 " + 3 " "	0,002
7	0,15 C	1,55		1 " + 3 " "	0,0012
8	0,05 C	1,65		1 " + 3 " "	0,0004
9	0,02 C	1,68		1 " + 3 " "	0,00016
10	0,1 Serum	1,9	0	1 " + 3 " "	Kontrolle
11	0	1,7	0,3	1 " + 3 " "	
12	0	2,0	0	1 " + 3 " "	
13	0,1 Serum	1,7	0,3	0 " "	

A = 0,1 Serum + 0,4 NaCl = 0,5

B = 0,05 A + 0,2 NaCl = 0,25

B = 0,05 B + 0,2 NaCl = 0,25

absolute Serummenge spezifische Bakterien zu vernichten vermochte. Der Zusatz des Komplements, d. h. des normalen Serums, ohne welches die Bakterizidie nicht erhalten werden kann, ist notwendig. In meinem Laboratorium bedienen sich die Kollegen zur Untersuchung der Bakterizidie in vitro vorstehender Tabelle.

A, B, C, es sind dies 3 kleine sterilisierte, gläserne Fläschchen mit durch Watte zugepfropften breiten Hälsen; in jedes Fläschchen wird mittels sterilisierter Pipette die in der Tabelle bestimmte Menge (in Kubikcentimetern) Serums und physiologischer NaCl-Lösung gebracht. In jedes der 9 sterilen Probierröhrchen wird die bestimmte Menge des zu untersuchenden Serums, des normalen Serums, physiologischer NaCl-Lösung, 1 Oese spezifischer Bakterien und 3 Tropfen Bouillon gebracht. Die 4 letzten Probierröhrchen dienen zur Kontrolle des Serums, des Komplements und der Bakterien. Die letzte Rubrik zeigt den Titer des untersuchten Serums, ihre absolut kleinste, zur Vernichtung 1 Oese spezifischer Bakterien nötige Dosis; wenn 0,006 (5. Probierröhrchen) und Kolonienwachstum in den Platten gibt, beim Gebrauch von 0,01 (4. Probierröhrchen) aber Kolonien auf den Platten fehlen, so sagen wir, daß der bakteriolytische Titer des untersuchten Serums = 0,01 ist. Die Resultate meiner Untersuchungen nach dieser Methode werde ich unten angeben.

Die Untersuchung in vivo besteht im sogenannten Pfeifferschen Phänomen. R. Pfeiffer hat ein aktiv immunisiertes Meerschweinchen mit virulenten Choleravibrionen infiziert, dann je 5 Minuten mittels einer Glaskapillare einen Teil des Peritonealexsudates gewonnen und sich durch die Untersuchung im hängenden Tropfen überzeugt, daß Vibrionen, welche beim Kontrolltiter sich lebhaft bewegen und seinen Tod verursachen, im Organismus des immunisierten Tieres in Körnchen und Kügelchen zerfallen und rasch zu Grunde gehen. Diese Methode, Pfeiffersches Phänomen genannt, dient zur qualitativen und quantitativen Untersuchung der bakteriziden Eigenschaften des Serums, dann zur Bestimmung der Spezifität oder zur Differenzierung der untersuchten Bakterien: Im ersten Falle gebrauchen wir das untersuchte Serum des Tieres oder des Menschen und die bestimmte Kultur spezifischer Bakterien von einer bestimmten festen Virulenz, im zweiten aber das bekannte hochwertige Serum mit dem bekannten bestimmten Titer und die untersuchte Kultur der isolierten Bakterien. Das Pfeiffersche Phänomen und die Reaktion des Serums sind beständiger und sicherer, als sogar die Bestimmung der Bakterienvirulenz; bakteriolytische und agglutinierende Eigenschaften bleiben sogar dann, wenn die Virulenz der betreffenden spezifischen Bakterien verschwunden ist. Die Grundlage dieser Untersuchungen ist die Gewinnung eines hochwertigen Serums, von dem 0,0002 G. genügen, um bei gleichzeitiger Einverleibung von 1 Normaldosis (= 2 mg) einer 18-stündigen Agarkultur von einer festen und bestimmten Virulenz mit 1 ccm Bouillon ins Peritoneum eines Meerschweinchens sämtliche Choleravibrionen während 20—40 Minuten in Körnchen und Kugelgebilde zerfallen zu lassen, d. h. es wird ein Serum gebraucht, dessen Titer 0,0002 G. entspricht. Aus dem Serum bereiten wir Verdünnungen 1:10, 1:100 und 1:1000, die Menge der genommenen 18-stündigen Kultur beträgt beständig 1 Oese, also die 10-fache tödliche Dose, mit 1 ccm Bouillon (nicht Pepton und nicht Salzlösung) zusammen gemischt; das Gemisch wird mittels einer stumpfen Nadel 2 Meerschweinchen einverleibt: Dem ersten 1 ccm der Verdünnung 1:100 (d. h.

10 mg Serum), dem zweiten 1 ccm der Verdünnung 1 : 1000 (d. h. 1 mg Serum), das dritte und vierte dienen zur Kontrolle (nämlich das dritte erhält 10 mg normales homologisches Serum, das vierte aber  $\frac{1}{4}$  Oese Kultur ohne Serum). Nach 20—40 Minuten ziehen wir mittels gläserner Kapillaren (System Pasteur oder Issajeff) etwas Exsudat aus der Peritonealhöhle und untersuchen ein Tröpfchen dieses Exsudates im hängenden Tropfen; 10 mg Serum genügen gewöhnlich zur Verwandlung sämtlicher Choleravibrionen in Körnchen. Bei der Untersuchung der bakteriziden Eigenschaften des Blutes einer immunisierten Person mittels des Pfeifferschen Phänomens nehmen wir statt des hochwertigen das Blutserum des betreffenden Individuums und titrieren es genau.

Das Pfeiffersche Phänomen ist ein ganz sicheres, vorzügliches Kriterium (bei regelrechter Technik und nach Pfeiffers und Issajeffs Hinweisen durchgeführter Kontrolle) der bakteriolytischen Fähigkeit des untersuchten Blutes und gibt ganz genaue, mathematisch sichere Angaben betreffs der bakteriziden Eigenschaften des Serums; das Wesen dieses Phänomens aber ist noch nicht endgültig aufgeklärt. Es gibt zwar zahlreiche Hypothesen, wie z. B. die der Plasmolyse und Plasmoptyse Fischers (1), Fixatoren Bordets, Makro- und Mikrocytasen und Stimuline Metschnikoffs (2), bakteriotrope Substanzen Neufelds und Töpfers (3), Glabriphysine Grubers (4), Aggressive Bails (5), endlich die so allseitige Ehrlichsche Theorie. Damit eben wird der Skeptizismus der Kritiker erklärlich, welche, da sie niemals ein so augenscheinliches Kriterium der bakteriziden Eigenschaften des immunisierten Tieres, wie es obige Methode und das Pfeiffersche Phänomen im besonderen sind, sehen und bloß von verschiedenen Impfungsmethoden und verschiedenen Hypothesen der sicher festgestellten Erscheinung hören, den aktiven Impfungen praktische Bedeutung und Anwendung absprechen. Von den angeführten zwei Bestimmungsmethoden der Bakterizidität des Blutes ist das Pfeiffersche Phänomen sicherer, weil bei der Zusammenmischung der lebendigen Kultur mit Choleraserum im Probierglase entweder keine Bakterizidie stattfindet oder sie in etwas stärkeren Konzentrationen erscheint als im lebendigen Organismus; um diesen Unterschied auszugleichen, wird noch normales Serum eingeführt, weil — nach den Ehrlichschen Experimenten — das genannte Phänomen zwei Faktoren erfordert, nämlich die Wirkung des immunisierten Organismus und die des Komplementes; weder der erste noch das letzte wirkt von selbst bakteriolytisch, erst bei der Zusammenwirkung beider Faktoren ist die Erscheinung der Bakteriolyse möglich. Obgleich das Blut der Cholerarekonvaleszenten spezifische bakterizide Körper, ähnlich wie das Blut der aktiv gegen Cholera immunisierten Tiere oder Menschen, enthält, so ist doch zwischen den beiden ein bestimmter Unterschied bemerkbar. Es beträgt nämlich der Titer des Serums bei nicht geimpften Menschen durchschnittlich 0,6, bei mit lebendigen oder abgetöteten Kulturen immunisierten in 5—8 Tagen nach der Impfung = 0,001 bis 0,005; bei Menschen aber, welche Cholera überstanden haben, überschreitet der Titer des Serums niemals 0,01, also nach künstlicher Immunisierung enthält das Serum sogar mehr bakterizide Substanzen als nach Ueberstehen der Cholera. Außerdem beginnen bei Rekonvaleszenten die ersten spezifischen Aenderungen des Blutes gewöhnlich erst den 14.—20. Tag seit dem Anfang der Krankheit, erreichen ihr Maximum in der 4.—5. Woche, um dann schnell zu verschwinden, so daß nach 2—3 Monaten keine spezifischen Antikörper im Blute nach-



gewiesen werden können; indessen erscheinen die letzteren bei der künstlichen Immunisierung bedeutend früher — den 5.—8. Tag und dauern von 6—14 Monate.

Blutbildende Organe sind die Bildungsstätte der Bakteriolyse, welche erst nach 5—8 Tagen von hier in die Säfte des ganzen Organismus übergehen (Pfeiffer und Marx).

Im laufenden Jahre habe ich in meinem Laboratorium eine Reihe Bestimmungen des bakteriolytischen und Agglutinationstiter bei Aerzten, Studenten und anderen Personen ausgeführt. Die erhaltenen Resultate sind interessant und bedeutsam, weil sie Hinweise betreffend die Dosierung, Menge, Zeit und Wahl der Vaccine geben. Ich habe 7 Personen nach der Methode der freien Rezeptoren, die übrigen nach Kolle geimpft. Aus der Gesamtzahl der Geimpften habe ich bei 18 den Titer nach der 2. Impfung (die 3. fand wegen verschiedener Ursachen nicht statt), bei 4 nach der 3. Impfung bestimmt. Den bakteriolytischen Titer habe ich bei allen Vaccinierten nach obiger Tabelle bestimmt, außerdem habe ich zur Kontrolle 8 Bakterizidiebestimmungen in vivo ausgeführt.

Tabelle II.

No.	Methode	Bakteriolytischer Titer vor der 1. Impfung	Bakteriolytischer Titer in 5 Tagen nach der 2. Impfung
5 Faw	Kolle	0,5—0,1	0,0012
1 Si	"	0,01	0,002
26 Sz	"	> 0,02	0,0012
27 St. Pos	"	0,06	0,002
28 Ol	"	0,01	0,006
29 Ni	"	0,06—0,1	0,0012
30 L. Ag	"	0,01	0,0012
31 M-W	"	0,02	0,002
32 To	"	0,01	0,002
33 S-n	"	0,01	0,002
34 W-i	"	0,01—0,02	0,002
35 K-an	Neisser-Shiga	0,01	0,012
36 O	"	0,02	0,006
37 T. Ger	"	0,06—0,1	0,002—0,006
38 A. Ger	"	0,2	0,006
39 Sael	"	0,1	0,0012—0,002
40 S. Aug	"	> 0,1	0,002
41 Nosk	"	0,01	0,002

Aus der obigen Tabelle sehen wir, daß es eigentlich keinen Unterschied zwischen der Kollischen Methode und der der freien Rezeptoren in den Resultaten gibt, daß aber in der Technik der Herstellung und Anwendung der Vaccine selbst ein großer Unterschied zu Ungunsten der Neisser-Shigaschen Methode besteht. Die folgende Tabelle zeigt das allmähliche Steigen des bakteriolytischen Titers nach der 2. und 3. Impfung:

Tabelle III.

No.	Methode	Bakteriolytischer Titer		
		vor der 1. Impfung	5 Tage nach der 2. Impfung	5 Tage nach der 3. Impfung
3 S-w	Kolle	0,02—0,06	0,0012	0,0004
7 Mrz	"	0,06	> 0,002	0,0004—0,00016
8 Bak	"	0,01	0,002	0,0012
14 Kost	"	> 0,1	0,006	0,006

Die Steigerung des Wertes des Titers war überhaupt sehr bedeutend, Kost ausgenommen, bei dem der Titer 0,006 nach der 2., ohne Aenderung auch nach der 3. Impfung blieb. Hier muß man jedoch bemerken, daß der Titer vielleicht größer wäre, wenn das Blut nicht nach 5, sondern nach 10 Tagen genommen wäre, und daß die 5-tägige Frist kein Endtermin des größten Wachstums der Immunkörper ist; in meinen Untersuchungen aber wollte ich stets das Blut in gleichen Zeitabschnitten titrieren. In einer weiteren Reihe von Untersuchungen wurde der Titer vor der 1. und nach der letzten, d. h. nach der 3. Vaccination mit Berücksichtigung der Dosis der Vaccine bestimmt; sämtliche folgenden habe ich nach Kollescher Methode ausgeführt.

Tabelle IV.

No.	Dosierung der Vaccine in Kubikcentimetern bei der 1., 2. und 3. Impfung	Bakteriolytischer Titer	
		vor der 1. Impfung	5 Tage nach der 3. Impfung
2 N	$\frac{1}{2}$ —1—1 $\frac{1}{2}$	0,02	0,0012
4 Sk	$\frac{1}{2}$ —1—1	> 0,1	0,0004
6 Gold	$\frac{1}{2}$ —1—1	0,1	0,01
9 Awg	$\frac{1}{2}$ —1—1 $\frac{1}{2}$	0,06—0,1	0,0012
10 K. S	$\frac{3}{4}$ —1—1 $\frac{1}{2}$	0,02	0,0004
11 Sik	$\frac{1}{2}$ —1—1	0,01	0,0004—0,00016
12 Lew	$\frac{1}{2}$ — $\frac{3}{4}$ —1	0,02—0,06	0,0012
13 B	$\frac{1}{2}$ —1—1	0,02	0,002
15 Kol	$\frac{1}{2}$ —1—1 $\frac{1}{2}$	> 0,1	> 0,002
16 Szez	$\frac{1}{2}$ —1—1 $\frac{1}{2}$	0,06—0,1	0,0004
17 Käs	$\frac{1}{2}$ —1—1 $\frac{1}{2}$	0,01	0,0004—0,0012
18 Bez	$\frac{1}{2}$ —1—1	0,01—0,02	0,0004—0,0012
19 Cas	$\frac{1}{2}$ —1—1	0,01—0,02	0,0012
20 Wa	$\frac{1}{2}$ —1—1	0,01	0,0012
21 Mo	$\frac{1}{2}$ —1—1 $\frac{1}{2}$	0,01	0,0004
22 Rap	$\frac{1}{2}$ —1—1 $\frac{1}{2}$	0,01	0,0004—0,0012
23 L	$\frac{1}{2}$ —1—1	0,02	0,0012
24 A. G	$\frac{1}{2}$ —1—1	0,01	0,0012
25 Cyb	$\frac{1}{2}$ —1—1	0,06—0,1	0,0012

Ueberhaupt stieg der bakteriolytische Titer nach der 2. Impfung 10—15mal, nach der 3. 20—25mal im Vergleiche mit der bakteriziden Kraft des Blutes vor der 1. Impfung. Eine Ausnahme bildete der Koll. Gold aus Ozorkow, bei dem ich nach der 3. Vaccination den Titer von nur 0,01 festgestellt habe, inloedessen derselbe, nachdem er von mir von solchem Resultat benachrichtigt wurde, sich selbst die Vaccine in einer Menge von 2 $\frac{1}{2}$  ccm einverleibte, jedoch das Blut zur wiederholten Untersuchung mir nicht zugeschickt hat.

Es besteht ein gerades Verhältnis zwischen dem Immunisierungsvermögen und der Dosis; die 3-maligen Impfungen haben also Uebergewicht über die 2-maligen nicht nur durch die Erreichung eines höheren Titers, sondern auch, was gleich wichtig ist, durch die Möglichkeit, eine kleine Dosis bei der 1. Impfung anzuwenden, inloedessen der Organismus sogar nach 1 und 2 ccm nicht so stark reagiert, wie es bei der Einverleibung gleich großer Dosen der Fall ist.

Gleichzeitig mit der Untersuchung der Bakterizidität habe ich in allen Fällen den Agglutinationstiter vor der Impfung und im Verlaufe der Immunisierung bestimmt, was ich in folgender Zusammenstellung darstelle:

Tabelle V.

No.	Bakteriolytischer Titer			Agglutinationstiter		
	vor der Impfung	5 Tage nach der 2. Vacci- nation	5 Tage nach der 3. Vaccination	vor der Impfung	5 Tage nach der 2. Vacci- nation	5 Tage nach der 3. Vacci- nation
1 Si	0,01	0,002	—	1:10 —	1:10 —	—
2 N	0,02	—	0,0012	1:10 —	—	1:80 +
3 S-w	0,02—0,06	0,0012	0,0004	1:10 +	1:10 +	1:80 +
4 Sk	> 0,1	—	0,0004	1:10 —	—	1:160 +
5 Jaw	0,5—0,1	0,012	—	1:10 +	1:80 +	—
6 Gold	0,1	—	0,011	1:10 +	—	1:10 +
7 Mrz	0,06	> 0,002	0,0004—0,00016	1:10 —	1:160 +	1:160 +
8 Bak	0,01	0,002	0,0012	1:10 +	1:80 +	1:500 +
9 Awg	0,06—0,1	—	0,0012	1:15 +	—	1:500 +
10 R. S	0,02	—	0,0004	1:10 —	—	1:320 +
11 Sik	0,01	—	0,0004—0,00016	1:10 —	—	1:180 +
12 Lew	0,02—0,06	—	0,0012	1:10 —	—	1:160 +
13 B	0,02	—	0,002	1:10 +	—	1:160 +
14 Kost	> 0,1	0,006	0,006	1:10 —	1:10 +	1:80 +
15 Kol	> 0,1	—	> 0,002	1:15 —	—	1:160 +
16 Szez	0,06—0,1	—	0,0004	1:10 —	—	1:500 +
17 Kás	0,01	—	0,0004—0,0012	1:10 —	—	1:500 +
18 Ber	0,01—0,02	—	0,0004—0,0012	1:10 —	—	1:500 +
19 Las	0,01—0,02	—	0,0012	1:10 —	—	1:320 +
20 Wa	0,01	—	0,0012	1:10 —	—	1:500 +
21 Mo	0,01	—	0,0004	1:10 —	—	1:500 +
22 Rap	0,01	—	0,0004—0,0012	1:10 +	—	1:500 +
23 L	0,02	—	0,0012	1:10 +	—	1:500 +
24 A. S	0,01	—	0,002	1:10 —	—	1:80 +
25 Cyb	0,06—0,1	—	0,0012	1:10 —	—	1:500 +
26 Sz	> 0,02	0,0012	—	1:10 —	1:160 +	—
27 St. Pos	0,06	0,002	—	1:10 —	1:500 +	—
28 Ol	0,01	0,006	—	1:10 —	1:80 +	—
29 Ni	0,06—0,1	0,0012	—	1:10 —	1:500 +	—
30 L. Ag	0,01	0,0012	—	1:10 —	1:80 +	—
31 M-w	0,02	0,002	—	1:10 —	1:250 +	—
32 To	0,01	0,002	—	1:10 —	1:500 +	—
33 Sn	0,01	0,002	—	1:10 —	1:320 +	—
34 W-i	0,01—0,02	0,002	—	1:10 +	1:80 +	—
35 K-an	0,01	0,012	—	1:10 —	1:320 +	—
36 O	0,02	0,006	—	1:10 —	1:250 +	—
37 T. Ser	0,06—0,1	0,002—0,006	—	1:10 —	1:80 +	—
38 Sad	0,01	0,0012—0,002	—	1:10 —	1:250 +	—
39 A. Ser	0,02	0,006	—	1:10 +	1:80 +	—
40 S. Awg	> 0,1	0,002	—	1:10 —	1:500 +	—
41 Nosk	0,01	0,002	—	1:10 —	1:500 +	—

Aus der obigen Zusammenstellung kann man schließen, daß es kein gerades Verhältnis zwischen der Dosis der Vaccine und dem Agglutinationstiter, noch zwischen dem letzteren und dem bakteriolytischen Titer gibt und daß endlich sogar die Zahl der Vaccinationen sich nicht in einem genauen Zusammenhang mit dem Agglutinationsvermögen des Blutes befindet.

Außer den oben angeführten 41 Impfungen mit der Bestimmung der Bakteriolytine und Agglutinine habe ich bis zum 1. Oktober v. J. 312 3-malige anticholerische Impfungen nach Kolle, bei denen mir meine Mitarbeiter Koll. J. Grabowski, Studenten R. Gloger, W. Kohn und B. Czaplicki beständig behilflich waren, ausgeführt. Die 14 vermögenden Personen ausgenommen, wurden die übrigen, gratis vacciniert. Wir notieren den Namen, die Adresse, das Alter

Gewicht, Beschäftigung und Stand einer jeden zu immunisierenden Person, ob eine oder auch einige Personen in derselben Familie vacciniert wurden, die lokale und allgemeine Reaktion, Dosierung; das ganze Verzeichnis aller Vaccinierten anzuführen halte ich für zwecklos. Nicht einmal habe ich ernsthafte schädliche Einflüsse beobachtet; die Reaktion war überwiegend lokal, seltener in schwachem Grade allgemein. In einem einzigen Falle (Koll. M.) hat sich am Morgen nach der 1. Vaccination ( $\frac{1}{2}$  ccm, Kollé)  $39^{\circ}$  Temperatur und starke Diarrhöe eingestellt, nach einer näheren Untersuchung aber erwies es sich, daß eine leichte Diarrhöe bei der genannten Person schon vorher während einiger Tage bestand, worüber ich nicht unterrichtet wurde; grundsätzlich aber frage ich stets darüber jeden zu Immunisierenden und im Falle einer Diarrhöe oder erhöhten Temperatur enthalte ich mich der Vaccination. Die Beschäftigungen betreffend, haben sich am meisten Schüler, dann Aerzte und ihre Familien, Studenten und Arbeiter, weniger Beamte den Vaccinationen unterworfen. Betreffend das Alter, habe ich 3 Kinder zu 5 Jahren, 4—6-jährige, dann 11 im Alter von 7 Jahren 14—8, 21—9, 36—10, 32—11, 38—12, 30—13, 13—14, 6—15, 5—16, 5—17, 9—18, 8—19, 5—20, 14—21, 19—22, 1—23, 7—24, 8—26, 2—27, 10—28, 1—29, 5—30, 2—31, 3—32 4—33, 1—34, 1—35, 1—36, 4—37, 2—38, 2—39, 1—40, 2—43, 1—44, 2—45, 2—46, 2—47, 1—52, 1 Person von 56 Jahren vacciniert.

Interessante Beobachtungen und Experimente hat im laufenden Jahre L. Karwacki (7), der mit Zurakowski zusammen die Aufgabe der Versorgung des Königreichs Polen mit einer genügenden Menge Vaccine auf sich genommen hatte, veröffentlicht. Karwacki hat bei 8 geimpften Personen das Blut 3mal vor der Impfung, 5 Tage nach der 1. und 10 Tage nach der 2. Impfung auf Bakteriolyse und Agglutinine untersucht. Er hat die bakteriziden Eigenschaften mittels des Pfeifferschen Phänomens bestimmt, indem er für positives Resultat nur einen solchen Fall hielt, wo alle oder wenigstens  $\frac{9}{10}$  aller Vibrionen in Körnchen verwandelt waren. 0,5 des positiven Pfeifferschen Phänomen gebenden Serums nennt Karwacki „bakterizide Einheit“, bei der Verdünnung 1:10 nennt er 10, bei 1:1000 1000 bakteriolytische Einheiten. Nun aber, wenn die bakterizide Kraft des Blutes vor der Impfung sich höchstens mit einer Einheit und das auch nicht bei allen ausgedrückt hat, steigerte sich diese Fähigkeit nach der 1. Impfung bis 50, in 10 Tagen aber nach der 2. bis 2000—2500—5000, ja sogar 10 000 Einheiten. Ein hoher Immunitätsgrad entsteht nach Karwacki erst nach 2-maliger Impfung, um den höchsten Immunitätsgrad aber zu erreichen, hält er 3-malige Impfungen für nötig. Wie wir oben gesehen haben, bestätigen meine Experimente diese letzte Möglichkeit vollständig. Karwacki hat den Agglutinationstiter nach der 2. Impfung auf 1:30, 1:50, 1:120, 1:150, 1:300, 1:350 und 1:400 bestimmt.

Auch in diesem Jahre haben E. Friedberger und C. Moreschi (8) eine Reihe von Untersuchungen ausgeführt, um den Einfluß zu ermitteln, welchen die Herstellungsmethode der Cholera- und Pestvaccine selbst auf das Resultat der Vaccination ausüben muß. Zu hohe Erwärmung von Bakterien bis  $150^{\circ}$  oder ihre Abtötung, mittels Chloroform ausgenommen, haben verschiedene Vaccinationsmethoden fast gleiche Resultate gegeben, gleichgültig, ob die Kulturen der bei  $60^{\circ}$  abgetöteten Bakterien keine deutlichen Unterschiede in der Antikörperbildung verursachen. Der von den Kritikern erhobene Einwand, daß die Schutz-

impfungen gegen Cholera den Bereich des Experimentes nicht überschritten hätten, entbehrt der Begründung: Im Gegenteil, sie sind schon eine wissenschaftlich begründete und experimentell festgestellte Methode geworden. Verschiedene Vaccinationsmethoden haben manche Mängel, nämlich die Unsicherheit in der Dauer der Immunität (ungefähr 1 Jahr) und daß die Methode der freien Rezeptoren Neisser-Shigas die Notwendigkeit eines übermäßigen Volumens des Impfstoffes für Vaccinationen verlangt.

Manche Autoren berechnen die Zeitdauer der Immunität auf 1 Jahr, andere auf 6 Monate. Jedenfalls empfehlen die erhaltenen, weder von Zeit und Ort, wo die Vaccinationen stattgefunden haben, noch von der Methodik abhängigen günstigen Resultate, dieselben wenigstens unter dem ärztlichen und sanitären Personal anzuwenden; bei uns im Königreich Polen aber, wo der sogenannte Kampf mit der Cholera eigentlich nur auf dem Papiere stattfindet, sollte man im größeren Umfang die prophylaktische Vaccination unter der Bevölkerung vornehmen, was jedenfalls gratis auszuführen ist. Die Vaccination ist völlig unschädlich, da sogar lebendige Choleravibrionen unter der Haut rasch zu Grunde gehen. Was die Technik betrifft, so werden die subkutanen Impfungen entweder am Rücken, unter dem Schulterblatt oder am linken Arm in der Gegend des *Musc. deltoideus* nach vorheriger Abwaschung der Haut mit Seife, 3-proz. Karbol, Spiritus und Aether ausgeführt; der letzte Wattebausch mit Aether bleibt auf der Stelle, wo eingestochen werden soll. Die Spritze, mit einem Asbest- oder Glaskolben von 1 ccm Volumen, mit einigen dünnen, nicht zu langen Nadeln wird 10 Minuten in Wasser mit Soda ausgekocht. Nach der Einverleibung der Vaccine einer Person (die Nadel richtet man von oben nach unten zwecks Entfernung von Luftbläschen) wird die Nadel mittels Pincette abgenommen und in heiße Sodalösung geworfen, eine frische Nadel legt man für die folgende Person an u. s. w. Aufgemachte Fläschchen oder Ampullen müssen auf einmal gebraucht, nicht aber für später gelassen werden. Der Geimpfte muß die Stichstelle einige Zeit mit Watte bedeckt halten. Es sollen nicht weniger als 2 Impfungen stattfinden, besser aber 3mal mit 5—6-tägigen Pausen, wenn die Reaktion schon verschwunden ist: Die erste Injektion  $\frac{1}{2}$  ccm, die Dosierung der zweiten und dritten Vaccination wird durch die Reaktion nach der ersten bedingt. Man darf Kinder unter 2 Jahren (höchstens die minimale Dosis =  $\frac{1}{10}$  der für Erwachsene), Greise über 60 Jahre sowie während der Epidemie solche Personen, welche an Magen- oder Darmerkrankungen leiden oder erhöhte Temperatur haben, nicht vaccinieren. Frauen wird um  $\frac{1}{4}$  weniger als Männern geimpft, Kindern je nach dem Alter  $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$  Dosis Erwachsener; bei der wiederholten Injektion wird die Dosis  $1\frac{1}{2}$ mal vergrößert; bei Personen mit großer Fettunterlage ist es besser, am Rücken, nicht am Arm zu vaccinieren. Meine eigenen Experimente bestätigen vollständig die Kolleschen Schlüsse, daß die Einverleibung der möglich größten Dosis der abgetöteten Kultur das beste Resultat und die am längsten dauernde Immunität gibt; mehrmalige Impfungen heben die Immunität und Dauerhaftigkeit; in den ersten Tagen nach jeder Injektion erfolgt anfänglich eine Abschwächung der bakteriziden Kraft des Blutes der Geimpften, die sogenannte „negative Periode“. Zu kleine Dosen dürfen nicht empfohlen werden, wie es früher Bassenge und Rimpau, in neuerer Zeit Friedberger und Moreschi (l. c.) vorgeschlagen haben.

Wir sehen also, daß die Schutzimpfungen gegen Cholera nicht nur

den Bereich des Experimentes überschritten haben, sondern eine wissenschaftlich begründete, experimentell durchgeprüfte Methode geworden sind. Was die statistischen Resultate betrifft, so müssen, obgleich die Autoren der letzten Jahre auf Grund der ausgedehnten Statistik übereinstimmend zu dem die Wirksamkeit und völlige Unschädlichkeit der Schutzimpfungen feststellenden Schluß kommen, die statistischen Resultate doch, wie üblich, mit einigem Vorbehalt aufgenommen werden. Haffkine hat geglaubt, daß es möglich sein wird, die Cholera in ihrem endemischen Herd in Indien mittels aktiver Immunisierung zu bekämpfen, er ist aber in religiösen, sozialen und lokalen Verhältnissen Schwierigkeiten begegnet, so daß unter 40000 geimpften Personen kaum  $\frac{1}{3}$  sich der wiederholten Impfung unterworfen hat. Denselben Schwierigkeiten sind die Forscher auch in anderen Ländern begegnet, dasselbe steht der Verbreitung von Schutzimpfungen im Königreich Polen im Wege, wo die Bevölkerung die Bedeutung und Wichtigkeit dieses besonders bei uns unentbehrlichen Eingriffs nicht versteht. Bei solchen Bedingungen kann kein Land, kein Forscher sich einer genauen Beweisstatistik rühmen, in welcher eine lange Reihe unergreifbarer Faktoren, wie die Intensität der Epidemie und deren Wellenbewegungen, veränderliche Virulenz des Infektionsstoffes, die Dauer der Epidemie in einzelnen Ortschaften (von einigen Wochen bis einige Jahre) und Ursachen dieser Dauer, ungleiche sanitäre und ökonomische Bedingungen der mit Cholera behafteten Orte, Standunterschiede der Bevölkerung, Alter, Beschäftigung, Dosis und Zeit der Impfung, endlich auch die der geringsten Kontrolle nicht zugängliche sogenannte Autovaccination [Serkowski (9)] berücksichtigt werden müssen. Dem vollständigen Auslöschen der Epidemie resp. dem Zugrundegehen der spezifischen Vibrionen in einer bestimmten Ortschaft kommt stets deren Abschwächung zuvor, welche sich durch den verminderten Prozentsatz der tödlichen Fälle und die geschwächte Verbreitungsfähigkeit der Seuche ausdrückt. Ein Anteil an dieser Erscheinung kann der erworbenen Immunität der Bevölkerung zugeschrieben werden. In Indien hat man schon längst folgende Periodizität in der Verbreitung der Choleraepidemie beobachtet, welche sich aus den eigentlichen Herden alle 3, seltener alle 2 oder 4 Jahre verbreitet; im ersten Jahre ist die Epidemie stark, im folgenden schwächer, im dritten löscht sie aus; wieder eine starke u. s. w. Solch eine Periodizität kann durch eine kurzdauernde erworbene Immunisierung der Bevölkerung erklärt werden. Aehnliche Wellenbewegung im Verlaufe wird auch während anderer Epidemien, z. B. der Diphtherie, beobachtet. Die erworbene Immunität betrifft nach Gamaleia nicht nur Personen, welche Cholera überstanden haben, sondern auch solche, die in sich den Infektionsstoff ohne jede bemerkbare Gesundheitsschädigung getragen haben.

Die zweite Ursache der Abschwächung und des endgültigen Auslösens der Epidemie besteht in Degeneration und Abschwächung der Choleravibrionen selbst, bei welcher eine große Neigung zur Degeneration, Bildung neuer Modifikationen und Rassen, zum Verlust ihrer Grundeigenschaften, wie die Virulenz und Agglutination unter dem Einfluß des spezifischen Serums beobachtet werden kann. Ohne wegen obiger Gründe die von Kolle, Powell, Haffkine, Zlatogoroff, Murata u. a. zusammengestellten Statistiken ausführlich anzuführen, kann man hier im allgemeinen den Schluß ziehen, daß die anticholerischen Vaccinationen die Zahl der Erkrankungen 5mal, die der Mortalität 4mal vermindern und den Krankheitsverlauf bedeutend abschwächen. Allen

statistischen Angaben kann man den Grundeinwand machen, daß man trotz vorsichtiger Zifferngruppierung niemals sicher sein kann, ob die Vaccinationen gleichmäßig in verschiedenen Ortschaften stattgefunden haben und ob die Immunisierten in demselben Grade wie die Nichtvaccinierten der Infektion unterlagen. Interessant hinsichtlich der Resultate sind einige Beobachtungen Muratas (10): 1) In den Ortschaften Akao und Sagoshi hat man die Bewohner immunisiert; obgleich die letzteren sehr lebhaft Beziehungen mit Okayama unterhielten, wo eine sehr starke Epidemie herrschte, ist unter den Vaccinierten keine einzige Erkrankung vorgekommen. 2) Unter den Angestellten einer gewissen Anstalt hat man 156 Personen vacciniert, 3 nicht, von den ersteren ist niemand krank geworden, unter den letzteren war ein tödlicher Cholerafall. 3) In einem begrenzten Teile der Stadt Samuto hat man auf 100 dort befindliche Einwohner 99 immunisiert und diese sind gesund geblieben, 1 Nichtvaccinierter ist krank geworden. 4) In einer Familie, wo alle, die Hausfrau ausgenommen, vacciniert wurden, ist nur die letztere cholerakrank geworden.

Die kurzdauernde Immunität gegen Cholera kann auch passiv durch die Einverleibung von Serum von Personen, die Cholera überstanden haben, oder von aktiv immunisierten Tieren in gesunde Menschen oder Tiere erreicht werden. Lazarus hat als erster im Jahre 1892 die Methode der passiven Immunisierung von Meerschweinchen ausgearbeitet, zu diesem Zwecke das Serum der Rekonvaleszenten gebraucht und festgestellt, daß 0,0001 ccm das Meerschweinchen während der nächsten 24 Stunden vor der intraperitonealen Infektion schützt, aber sogar große Dosen ganz wirkungslos sind, wenn die Infektion schon eingetreten ist. Nach Wassermann hat das Serum der Cholerarekonvaleszenten 2 Tage nach der Krankheit keine immunisierenden Eigenschaften, 4 Wochen später aber schützt 0,0001 ccm das Meerschweinchen, nach 7 Wochen steigt die Kraft des Serums noch 10-fach. Aus den Untersuchungen sehr vieler Autoren folgt, daß der Immunisierungswert des Serums bis zu einem bestimmten Grade parallel der Stärke der passiven Immunisierung des Tieres, von welchem das Serum stammt, geht. Den höchsten Wert hat Pfeiffer bei Ziegen erreicht, welche er allmählich passiv so hoch immunisiert hat, daß 0,0001 ccm des Serums zum Schutze des Meerschweinchens vor intraperitonealer Infektion mit der 10-fachen tödlichen Dosis ausreichte. Ohne sehr viele Untersuchungen und Versuche der passiven Immunisierung anzuführen, kann man schließen, daß, im Gegensatz zur aktiven, die passive Immunisierung sogar nach Einverleibung einer großen Menge des hochwertigen Serums eine schnell vorübergehende Immunität hervorruft. Das Serum aktiv immunisierter Tiere und Menschen besitzt spezifische bakteriolytische, nicht aber antitoxische Eigenschaften. Wenn  $\frac{1}{2}$  Stunde nach intraperitonealer Infektion mit 1 Oese virulenter Cholera-kultur hochwertiges Serum einverleibt wird, so erfolgt noch eine schnelle Vibrionenauflösung,  $1\frac{1}{2}$  Stunden nach der Infektion aber vermögen sogar große Serumdosen das Tier nicht zu retten. Infolgedessen kann die praktische Anwendung der passiven Immunisierung bei kranken Menschen jetzt schon, besonders angesichts des schnellen Krankheitsverlaufs, noch nicht groß sein. Die Behandlungsversuche mittels des Serums erwiesen sich bis jetzt nicht nur nutzlos, sondern in vielen Fällen sogar infolge des plötzlichen Zerfalls einer Masse von Vibrionen und der schnellen Absorption einer Menge frei gewordener Endotoxine durch den Organismus schädlich. Der in Indien geprüfte therapeutische

Wert der sogenannten antitoxischen Sera hat bis jetzt bei Cholera negative Resultate gegeben.

Auf Grund des Obigen müssen wir uns einstweilen mit der aktiven Schutzimpfung begnügen, welche nur dann wirksam sein kann, wenn sie massenhaft angewendet werden wird: Es ist die Pflicht eines jeden aufgeklärten Bürgers, zuerst eines Arztes, am dringendsten zu freiwilligen Massenimpfungen aufzumuntern. Die ersten Impfungen im Königreich Polen hat man in Lodz ausgeführt, dann in Parczew, Gouv. Siedlec (Dr. Kaczyński), Kielce (Dr. Jabłoński), Tuszyn (Dr. Skalski), Ozorków (Dr. Goldenberg), Piotrków (Dr. Marcinkowski) u. a. In letzter Zeit haben Dr. Karwacki und Dr. Zurakowski in Warschau und Prof. Bujwid in Krakau angefangen, die anticholerischen Vaccine zu bereiten.

Wie notwendig bei uns die anticholerischen Massenimpfungen sind, dafür kann als schlagendes Beispiel Lodz dienen, wo ich bisher von 27 Cholerafällen 13 als tödliche bakteriologisch festgestellt habe, ohne die über 100 verdächtigen, nicht festgestellten (nicht untersuchten) Fälle zu zählen. Der sogenannte „Kampf mit Cholera“ läßt sich bei uns das Ausfahren von Exkrementen auf leere Plätze innerhalb der Stadt gefallen; weder die Abortgruben noch die Fässer werden desinfiziert; die Ausfuhr findet meistens in offenen, spaltigen, mittels Schöpfeimer gefüllten Fässern statt, sporadische Cholerafälle kommen hauptsächlich in der Nähe der Orte, wohin die Exkremente ausgefahren werden, vor; in offene Rinnsteine werden aus jedem Hause die nicht-desinfizierten Abwässer aus Wäschereien, Küchen, Ställen, in einigen Häusern sogar aus Abritten ausgegossen; nicht nur private, sondern sogar städtische (3 ausgenommen) Brunnen enthalten zum Gebrauch untaugliches und schädliches Wasser und trotz meiner ununterbrochenen Ermahnungen wird gar nicht desinfiziert, gereinigt noch vertieft. Fast kein einziges der von der sanitären Kommission auf dem Papier ausgearbeiteten Postulate ist verwirklicht worden, wie die Reinigung der Höfe, Gruben, Müllkisten, die Popularisation u. s. w., es gibt keine städtische Desinfektionskammer; die ärztliche und die hygienische Gesellschaft werden von der Teilnahme an sanitären Angelegenheiten ferngehalten; infolge des Verbotes der populären Vorlesungen und des Fehlens jeder Popularisation übt die Bevölkerung keine hygienischen Vorschriften aus und versteht es auch nicht, fürchtet sich vor Baracken, will die Kranken in den Isolierungshäusern nicht unterbringen, benachrichtigt nicht von verdächtigen Fällen, versteckt man nicht nur Kranke, sondern sogar Leichen, endlich erlaubt man den Sanitären nicht, die Wohnungen zu desinfizieren. So ungefähr präsentiert sich bei uns der „Kampf mit Cholera“. Die ganze Hoffnung besteht in der selbständigen Abschwächung des Infektionsstoffes während der gegenwärtigen Epidemie und in deren selbständigem Auslöschen.

#### Literatur.

- 1) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXV. 1900. Vergl. auch Serkowski, Ueber Kryoskopie. 1901. — 2) Immunitätslehre. 1903. p. 230 ff. [Russisch.] — 3) Centrallbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. 1905. Heft 4. p. 456. — 4) Münch. med. Wochenschr. u. Dtsche med. Wochenschr. 1896. No. 15. — 5) Arch. f. Hyg. Bd. LIII. Heft 3. p. 272. — 6) Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXVII. 1898. p. 272. — 7) Medycyna. 1905. — 8) Centrallbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX. 1905. Heft 4. p. 453. — 9) Serkowski, Czasop. Lek. 1906. — 10) Nach Kolle-Wassermann.



*Nachdruck verboten.*

## Ueber die Eigenschaften eines von Ziegen gewonnenen Antityphusserums.

Von **Allan Macfadyen,**

Lister Institute of Preventive Medicine London.

In dieser Mitteilung habe ich die Absicht, einen kurzen Bericht über die Resultate zu geben, welche ich durch Immunisierung der Ziege mit den Zellsäften der Typhusbacillen erhalten habe. Die Experimente sind eine Fortsetzung der früher veröffentlichten, deren Hauptziel es war, einen Antikörper gegen das Typhusendotoxin zu gewinnen (1). Bei anderer Gelegenheit werde ich über die Versuche berichten, welche mich zu der jetzt beschriebenen Immunisierungsmethode geführt haben und auch über die soweit überstandenen Schwierigkeiten, welche den Fortschritt meiner Untersuchungen verzögert haben.

Es wird augenblicklich genügend sein, wenn ich sage, daß zur Lösung der theoretischen und praktischen Fragen, die mir entgegengetreten sind, die Ziege sich als ein viel geeigneteres Tier als das Pferd erwiesen hat. Es war viel leichter, die Methode, die ich später auf das Pferd übertragen will, zuerst an der Ziege gründlich auszuarbeiten. Die Versuche sind jetzt so weit vorgeschritten, um einen Bericht darüber geben zu können. Der Zweck der Versuche war also folgender:

Wie kann man am besten durch Benutzung der Zellsäfte des Typhusbacillus einen Antikörper für das schon demonstrierte Typhusendotoxin erzeugen, und eine befriedigende Steigerung des antitoxischen Wertes des Serum erreichen.

Im Laufe meiner Versuche sind von Dr. Besredka zwei Arbeiten erschienen über einen Antikörper für das Typhusendotoxin (2). Diese werde ich zuerst kurz erwähnen.

Besredka hat nämlich ein Pferd mit toten und lebenden Typhusbacillen intravenös injiziert. Die am Pferde gemachten Injektionen erstreckten sich über 2 Jahre. — Das Pferdeserum wurde auf seinen antitoxischen Wert geprüft gegen 1) getötete und getrocknete Typhuskulturen, wovon 0,01 g Meerschweinchen intraperitoneal tötete, 2) ein lösliches Endotoxin von den trockenen Bacillen extrahiert, wovon  $\frac{1}{9}$  ccm tödlich war. Die Hauptresultate waren folgende: 10 cg trockenes Serum (ungefähr 1 ccm) neutralisierte 10 Dosen der toten Bacillen und 16 Dosen des löslichen Endotoxins auf Meerschweinchen geprüft.

Diesen niedrigen Wert hat Besredka nach 2 Jahre langer Behandlung des Pferdes mit Typhuskulturen erhalten. Ich werde nochmals auf seine Resultate zurückkommen.

Die Zellsäfte, die ich für meine Versuche benutzt habe, wurden in folgender Weise präpariert. Die virulenten Typhusbacillen direkt von der Bauchhöhle des Meerschweinchens isoliert, wurden auf Nähragar in Roux-Flaschen 18 Stunden lang bei Bruttemperatur gezüchtet. Die Kulturen wurden mit destilliertem Wasser abgewaschen, und  $\frac{1}{2}$  Stunde lang zentrifugiert. Die Bacillen wurden danach bei der Temperatur von flüssiger Luft in dem schon beschriebenen Apparat zerkleinert, ungefähr  $\frac{1}{2}$  Stunde pro Gramm Bacillen. Das Produkt wurde in 1 pro Mille KalilaugeLösung aufgenommen und während 2 Stunden zentrifugiert. In dieser Weise bekam man einen 10-proz. Extrakt von Typhuszellsaft

und als Beimengung solche Bacillen, die nicht durch das 2 Stunden lange Zentrifugieren entfernt wurden. Die Flüssigkeit wurde  $\frac{1}{2}$  Stunde mit Chloroformdampf behandelt. Die so erhaltenen Zellsäfte waren steril und für die Versuchstiere, nämlich Ziegen und Kaninchen, akut toxisch intravenös.

Die nach dieser Methode gewonnenen Endotoxine sind labile Körper und die Zellsäfte verlieren rasch ihre ursprüngliche Giftigkeit. Die aufbewahrten Zellsäfte haben geringe oder gar keine toxische Wirkung.

Die Versuche, welche ich mit diesen Säften zuerst gemacht habe, überzeugten mich, daß man in dieser Weise wenig Toleranz in den Versuchstieren gegen vollgiftige Säfte erzeugen würde. Die Wahrscheinlichkeiten waren gegen diese leichtere und weniger gefährliche Immunisierungsmethode.

Ich habe deshalb in meinen späteren Versuchen nur frische, akut-toxische Zellsäfte benutzt. Die Säfte enthielten durchschnittlich 10 bis 12 mg feste Bestandteile pro Kubikcentimeter.

Die frischen Säfte wirkten auf Ziegen intravenös akut toxisch. Die erste Ziege starb nach Einspritzung von 1 ccm;  $\frac{1}{10}$  ccm war auch akut toxisch und 2 Ziegen starben nach Einspritzung von  $\frac{1}{20}$  ccm binnen 12 Stunden. Die Tiere wurden ohnmächtig mit heftiger Diarrhøe. Andere Ziegen bekamen nach Injektion von  $\frac{1}{20}$  ccm akut Diarrhøe, und  $\frac{1}{30}$  ccm genügte schon, die Tiere krank zu machen.

Es war deshalb klar, daß die intravenösen Injektionen der toxischen Zellsäfte sehr vorsichtig ausgeführt sein mußten, um die Tiere nicht zu sehr anzugreifen oder zu töten. Eine Ziege starb nach Einspritzung von  $\frac{1}{20}$  und  $\frac{1}{10}$  ccm; eine andere Ziege nach Injektion von  $\frac{1}{20}$ ,  $\frac{1}{10}$ ,  $\frac{1}{2}$  und 1 ccm binnen 4 Stunden. Diese Erfahrungen haben mich gelehrt, mit kleineren Dosen anzufangen und sie sehr allmählich nach genügenden Intervallen zu steigern — eine Injektion wöchentlich war genügend.

Es war auch zweckmäßig, dieselbe Dosis zu wiederholen, bis sie nicht mehr toxisch wirkte, ehe man sie steigerte. Die Methode hat sich bis jetzt bewährt, denn nur durch sie ist es gelungen, die Tiere an sonst tödliche Dosen des Endotoxins gewöhnen zu können.

In dem hier beschriebenen Versuche wurde die antiendotoxische Wirkung des Serums auf Kaninchen probiert. Das Endotoxin tötete Kaninchen intravenös in akuter Weise, z. B.  $\frac{1}{10}$  ccm nach heftiger Diarrhøe, manchmal in 2 Stunden; auch  $\frac{1}{20}$  ccm war ebenfalls eine tödliche Dosis. Nach Einspritzung waren die Kaninchen gewöhnlich binnen einer Stunde krank. Die Bedingungen waren deshalb genügend streng, um irgend eine antiendotoxische Wirkung zu konstatieren. Die Toxicität der Zellsäfte war bei jedem Versuch festgestellt.

Ich habe mich zuerst überzeugt, daß weder normales Ziegen- oder Kaninchenserum irgend eine bemerkbare antitoxische Wirkung besaß. Das Serum der behandelten Ziegen wurde auch für Agglutinine und Bakteriolyse geprüft.

Ich werde nun meinen ersten gelungenen Versuch mitteilen.

### Ziege I.

Bekam intravenös jeden 7. Tag folgende Mengen der toxischen Zellsäfte des *B. typhosus*:

$\frac{1}{20}$  ccm: Tier krank,  $\frac{1}{10}$  ccm: krank,  $\frac{1}{5}$  ccm: krank,  $\frac{1}{2}$  ccm: krank, 1 ccm: krank, 1 ccm: krank, 1 ccm: wohl, 1,5 ccm: wohl, 1,5 ccm: wohl, 2 ccm: krank, 2 ccm: krank, 2,5 ccm: Tier tot.

Nach diesem Versuch war es klar, daß andere Tiere noch vorsichtiger und mit noch geringeren Dosen behandelt werden mußten.

Die Serumprüfungen der Ziege I sind in Tabelle II gegeben. In allen Proben wurde das Gemisch von Serum und Gift vor Einspritzung  $\frac{1}{2}$  Stunde bei  $37^{\circ}$  C gehalten.

I. Normalserum der Ziege.					
Kaninchen	I:	3 ccm Serum	+	1 ccm Endotoxin	†
"	II:	2 "	+	1 "	†
"	III:	Kontrolle	"	$\frac{1}{10}$ "	†
"	IV:	"	"	$\frac{1}{40}$ "	Diarrhöe.

3 ccm des normalen Ziegenserums hat also 1 ccm eines toxischen Zellsaftes nicht neutralisiert, wovon  $\frac{1}{10}$  ccm tödlich war und  $\frac{1}{20}$  ccm toxisch wirkte.

II.  
Serumprüfung der Ziege I.

Datum	Kaninchen	Serum + Endotoxin			Bemerkungen
23. Juni 1905	1	3 ccm Serum	+	1 ccm Endotoxin	lebt
	2	Kontrolle	"	" "	tot
7. Juli 1905	1	3 ccm Serum	+	2 "	lebt
	2	3 "	+	1 "	"
	3	2 "	+	1 "	"
	4	Kontrolle	"	2 "	tot nach 4 Std.
	5	"	"	$\frac{1}{20}$ "	" " 18 "
14. Juli 1905	1	3 ccm Serum	+	2 "	lebt
	2	2 "	+	2 "	"
	3	1 "	+	1 "	"
	4	$\frac{1}{10}$ "	+	1 "	"
	5	Kontrolle	"	$\frac{1}{10}$ "	tot
	6	"	"	$\frac{1}{20}$ "	akut Diarrhöe
21. Juli 1905	1	1 ccm Serum	+	1 "	lebt
	2	$\frac{1}{2}$ "	+	1 "	"
	3	$\frac{1}{10}$ "	+	1 "	"
	4	Kontrolle	"	1 "	tot
	5	"	"	$\frac{1}{10}$ "	akut Diarrhöe
	6	"	"	$\frac{1}{15}$ "	" "
4. Aug. 1905	1	$\frac{1}{20}$ ccm Serum	+	1 "	lebt
	2	$\frac{1}{50}$ "	+	1 "	"
	3	$\frac{1}{100}$ "	+	1 "	" tödliche Dosis nicht vermittelt
11. Aug. 1905	1	$\frac{1}{20}$ "	+	1 "	lebt
	2	$\frac{1}{50}$ "	+	1 "	"
	3	$\frac{1}{100}$ "	+	1 "	tot
	4	Kontrolle	"	1 "	" nach 4 Std.
	5	"	"	$\frac{3}{10}$ "	" " 18 "
	6	"	"	$\frac{1}{10}$ "	" " 18 "

Die Tabelle zeigt, daß im Laufe der Behandlung Antikörper für das Endotoxin erzeugt und daß die Resultate ermutigend waren. Nach 12 Einspritzungen des Typhuszellsaftes war  $\frac{1}{50}$  ccm des Ziegenserums im stande, 10 tödliche Giftdosen zu neutralisieren. Diese Fähigkeit war nicht in 3 ccm Normalserum vorhanden. Es war deshalb gelungen, nicht nur eine antiendotoxische Wirkung zu konstatieren, sondern den Wert des Serums bedeutend zu erhöhen. Es war eine bemerkbare Steigerung des Immunisierungswertes des Serums erzielt.

In dieser Mitteilung beabsichtige ich nicht auf die agglutinierenden und bakteriolytischen Eigenschaften des Serums einzugehen. Agglutinine waren in schwankender Menge vorhanden. — Der höchste Titer war bei  $\frac{1}{1000000}$  Verdünnung des Serums erreicht. Was Bakteriolytine betrifft, schützte nach 12 Einspritzungen des Zellsaftes  $\frac{1}{10000}$  ccm des Serums Meerschweinchen intraperitoneal gegen 10 tödliche Dosen der Typhusbacillen.

Das Serum der Ziege I besaß also bestimmte antiendotoxische, agglutinierende und bakteriolytische Eigenschaften. Hiernach habe ich an frischen Ziegen diese Resultate kontrolliert und die Behandlung noch vorsichtiger ausgeführt.

Die adoptierte Methode wird durch folgende Tabelle klar.

### Ziege II.

Bekam intravenös jeden siebenten Tag folgende Mengen des toxischen Zellsaftes des *B. typhosus*:

$\frac{1}{20}$  ccm: Tier krank,  $\frac{1}{20}$  ccm: wohl,  $\frac{1}{15}$  ccm: krank,  $\frac{1}{15}$  ccm: wohl,  $\frac{1}{10}$  ccm: wohl,  $\frac{1}{10}$  ccm: krank,  $\frac{1}{10}$  ccm: krank,  $\frac{1}{10}$  ccm: wohl,  $\frac{1}{8}$  ccm: krank,  $\frac{1}{8}$  ccm: wohl,  $\frac{1}{8}$  ccm: wohl,  $\frac{1}{6}$  ccm: krank,  $\frac{1}{6}$  ccm: wohl,  $\frac{1}{6}$  ccm: wohl,  $\frac{1}{4}$  ccm: wohl,  $\frac{1}{4}$  ccm: wohl,  $\frac{1}{3}$  ccm: krank,  $\frac{1}{3}$  ccm: wohl.

Drei Ziegen sind in Behandlung bei dieser Methode von geringer und sanfter Dosierung, und keine ist bis jetzt gestorben.

Das Serum der Ziege II war gleichfalls auf antiendotoxische Wirkung probiert. Die Resultate sind aus Tabelle III ersichtlich. Während die Menge des Zellsaftes in Ziege I injiziert von  $\frac{1}{20}$  bis  $2\frac{1}{2}$  ccm erhöht wurde, betrug die Menge am Ende der jetzigen Proben in Ziege II injiziert nur  $\frac{1}{8}$  ccm Zellsäfte, 10–12 mg feste Substanz enthaltend.

### III. Serumprüfung der Ziege II.

Datum	Kaninchen	Serum + Endotoxin				Bemerkungen
29. Dez. 1905	1	$\frac{1}{60}$ ccm Serum	+	1 ccm Endotoxin		lebt
	2	$\frac{1}{20}$ " "	+	1 " "		tot
	3	$\frac{1}{100}$ " "	+	1 " "		lebt
	4	Kontrolle		$\frac{1}{5}$ " "		tot nach 2 Std.
	5	"		$\frac{1}{10}$ " "		akut Diarrhöe
19. Jan. 1906	1	$\frac{1}{60}$ ccm Serum	+	1 " "		lebt
	2	$\frac{1}{100}$ " "	+	1 " "		tot
	3	Kontrolle		$\frac{1}{10}$ " "		"
26. Jan. 1906	1	$\frac{1}{60}$ ccm Serum	+	1 " "		lebt
	2	$\frac{1}{100}$ " "	+	1 " "		tot
	3	Kontrolle		$\frac{1}{10}$ " "		"
2. Febr. 1906	1	$\frac{1}{10}$ ccm Serum	+	1 " "		lebt
	2	$\frac{1}{20}$ " "	+	1 " "		"
	3	$\frac{1}{60}$ " "	+	1 " "		"
	4	$\frac{1}{100}$ " "	+	$\frac{1}{2}$ " "		"
	5	Kontrolle		$\frac{1}{10}$ " "		tot nach $2\frac{1}{2}$ Std.
	6	"		$\frac{1}{20}$ " "		" " 2 "
	7	"		$\frac{1}{30}$ " "		" " 18 "
9. Febr. 1906	1	$\frac{1}{60}$ ccm Serum	+	1 " "		lebt
	2	$\frac{1}{60}$ " "	+	1 " "		"
	3	$\frac{1}{100}$ " "	+	1 " "		tot
	4	$\frac{1}{100}$ " "	+	$\frac{1}{2}$ " "		lebt
	5	Kontrolle		$\frac{1}{10}$ " "		tot
	6	"		$\frac{1}{20}$ " "		akut Diarrhöe.

Die Tabelle demonstriert nochmals das Erzeugen in deutlicher Menge eines Antiendotoxins. Der antiendotoxische Wert war so weit erhöht, daß schon  $\frac{1}{50}$  ccm Serum der Ziege II genügte, um ein Kaninchen gegen 30 tödliche Dosen des Giftes zu schützen.

Trotz Injizieren relativ kleinerer Mengen des Zellsaftes als in Ziege I waren die Resultate, was antiendotoxische Wirkung betrifft, äquivalent, und eine deutliche Steigerung der Immunität nachweisbar. Diese Steigerung hervorzubringen, war das schwierigste Problem, das ich zu lösen hatte und es ist mir so weit gelungen.

In folgenden Versuchen wurden Serum und Gift simultan, aber getrennt injiziert.

**Kaninchen I:** Erhielt 15 tödliche Dosen Typhuszellsaft in die rechte und 1 ccm Serum in die linke Ohrvene. 20 Minuten später wurde noch 1 ccm Serum injiziert. Das Tier lebte.

**Kaninchen II:** 5 tödliche Dosen Endotoxin in die rechte und 1 ccm Serum in die linke Ohrvene. Das Tier lebte.

**Kaninchen III:** 5 tödliche Dosen in die Ohrvene und  $\frac{3}{4}$  Stunde später am Anfang der toxischen Symptome 2 ccm Serum. Das Tier lebte.

Die antiendotoxische Wirkung war also auch unter diesen Bedingungen gelungen.

Das Agglutinititrat des Serums war im Laufe der Immunisierung auch schwankend. Der höchste Titer war bei  $\frac{1}{1\,000\,000}$  Serumverdünnung nachweisbar.

$\frac{1}{10\,000}$  ccm des Serums schützte Meerschweinchen gegen 10 tödliche Dosen Typhusbacillen.

Das Serum war auch gegen das Choleraendotoxin in folgender Weise probiert:  $\frac{1}{2}$  ccm Typhusserum wurde mit drei tödlichen Dosen Choleraendotoxin gemischt und nach  $\frac{1}{2}$  Stunde bei  $37^{\circ}$  C dem Kaninchen intravenös injiziert. Das Kaninchen starb  $2\frac{1}{2}$  Stunde nach der Injektion. Dadurch war bewiesen, daß  $\frac{1}{2}$  ccm von Typhusserum, wovon  $\frac{1}{50}$  ccm gegen 30 Dosen des Typhusendotoxins schützte, nicht fähig war gegen drei tödliche Dosen Choleraendotoxin zu schützen. Insoweit war das Serum spezifisch.

Das Serum der Ziege II wurde für Präzipitinreaktionen gegen den frischen Typhuszellsaft geprüft. Das Resultat war negativ in Verdünnungen von 1:10, 1:100 und 1:500. — Es waren keine bemerkbaren Präzipitine im Blut vorhanden, trotz der deutlichen antitoxischen Wirkung des Serums.

### Schlusfolgerungen.

1) Durch intravenöse Behandlung der Ziege mit toxischen Zellsäften der Typhusbacillen (in der beschriebenen Weise gewonnen) in kleinen und sehr vorsichtig regulierten Mengen, ist es möglich geworden, ein Antiendotoxin zu gewinnen.

2) In dieser Weise ist es auch möglich geworden, eine prägnante Steigerung des antitoxischen Wertes des Serums zu erzielen — indem  $\frac{1}{50}$  ccm 30 tödliche Dosen des toxischen Zellsaftes neutralisierte — eine Eigenschaft, die nicht in 3 ccm normalem Ziegenserum vorhanden ist.

3) Nach weniger als 4 Monate langer Behandlung der Ziege wurden diese Resultate schon erzielt. Sie sind nach einer rascheren Immunisierungsmethode unweit besser als die von Besredka mit toten und lebenden Bacillen erhaltenen, nach 2 Jahre langer Behandlung eines Pferdes.

4) Wirksam war auch das Serum gegen das Endotoxin, als beide simultan aber getrennt injiziert waren.

5) Das Serum wirkte agglutinierend auf Typhusbacillen in einer Verdünnung von  $\frac{1}{1\,000\,000}$  ccm.

6) Das Serum war auch bakteriolytisch,  $\frac{1}{10\,000}$  ccm schützte gegen 10 tödliche Dosen des Typhusbacillus.

7) Das Serum hatte keine nachweisbare Präzipitinwirkung auf frische und toxische Typhuszellsäfte.

8) Das Typhusserum schützte nicht gegen drei tödliche Dosen des Choleraendotoxins und war in dem Maße spezifisch.

Es soll nun meine nächste Aufgabe sein zu versuchen, inwieweit es möglich ist, analoge Resultate beim Pferde zu erzielen.

Ich habe auch positive Resultate mit Choleraendotoxin an der Ziege erhalten, und werde bald ausführlich darüber berichten.

Ich bin Herrn E. T. Thompson für seine große Hilfe sehr verpflichtet, ebenso für eine Verbesserung am Apparat, wodurch der Zerkleinerungsprozeß ganz ungefährlich geworden ist.

#### Referate.

- 1) Macfadyen, Allan, Upon the immunising effects of the intracellular contents of the typhoid bacillus as obtained by the disintegration of the organism at the temperature of liquid air. (Proceedings, Royal Society. 12 March. 1903.) — Macfadyens, Allan and Rowland, Sydney, Upon the intracellular constituents of the typhoid bacillus. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXX. 1901. No. 20 und Bd. XXXIV. 1903. No. 7.)
- 2) Beareddka, Etude sur le bacille typhique et le bacille de la peste. (Annales de l'Institut Pasteur. T. XIX. 1905. Juillet.) — De l'antiendotoxine typhique et des antiendotoxines en général. (Ibid. T. XX. 1906. Février.)

*Nachdruck verboten.*

## Die Wirksamkeit des Formalins und des Wasserstoffsuperoxyds in der Milch.

[Aus dem Hygienischen Institut der kgl. Universität Turin.  
Direktor: Prof. Dr. L. Pagliani.]

Von Dr. P. Bandini.

Das neue, auf dem zu Cassel am 25. September 1903 gelegentlich des dort abgehaltenen deutschen Naturforscherkongresses von Behring aufgestellte Programm für den Kampf gegen die Tuberkulose hat die Aufmerksamkeit der studierenden Welt einer Reihe von Problemen zugelenkt, die mit der eigenartigen und interessanten Theorie in innigstem Zusammenhang stehen.

Es ist heute allgemein bekannt, auf welcher Grundlage sich die Behring'sche Immunisationsmethode aufbaut. Dieser geniale Forscher ist auf der Basis pathologisch-anatomischer und experimenteller Beobachtungen zu der Ueberzeugung gelangt, daß die Tuberkuloseinfektion fast ausschließlich in den ersten Lebensperioden stattfindet, und zwar wegen der besonderen Bau- und Funktionsverhältnisse des Verdauungsapparates der Tiersäuglinge, deren Magendarmschleimhaut unfähig sei, sobald einmal Tuberkelbacillen durch infizierte Milch auch in den Ver-

dauungskanal gelangt sind, den Uebergang derselben in den Organismus zu verhindern.

Da aber praktische Schwierigkeiten sich einer direkten Immunisation der Neugeborenen auf subkutanem Wege in den Weg gestellt hätten, hat Behring die Ernährung der Kinder mit gegen Tuberkulose hyperimmunisierter Kuhmilch in Vorschlag gebracht, von der Ansicht ausgehend, daß das Aufsaugen der Schutzstoffe eben infolge der besonderen, im Magendarm herrschenden Verhältnisse in dieser ersten Lebensperiode außergewöhnlich leicht vor sich gehen müsse, in derselben Weise, wie dies mit der Aufsaugung des proteischen Materiales der Fall ist.

Diese neue und geniale Anschauung hat jedoch nicht Alle überzeugt. Im Gegenteil, die meisten Redner, die in der letzten Zeit in der Berliner medizinischen Gesellschaft gesprochen, haben sich als Gegner der Behring'schen Theorie erklärt. So bekämpften Westenhoeffer, Schütz, A. Fraenkel, Meyer, Max Wolff, Cornet, C. Flügge, alles treue Verteidiger der alten Theorie, nach der die Tuberkulose fast ausschließlich durch den Atmungsapparat in den Organismus einzieht, die neuen Anschauungen Behrings aufs heftigste.

Es ist hier nicht der Ort, sich weiter in Erörterungen über den Wert dieser neuen Theorie einzulassen. Auf jeden Fall aber verdient sie eben der wissenschaftlichen Autorität wegen, die sie vorgebracht, von allen Forschern aufmerksamst beachtet und geprüft zu werden.

War die Milchkonservation auch eine mehr oder weniger lange Zeit schon ein Hygiene und Hauswirtschaft stark interessierendes Problem, das zu zahlreichen Versuchen Veranlassung gegeben hat, so begreift man ohne weiteres, welche Bedeutung dieses Problem heute haben muß nach Veröffentlichung der Ideen Behrings und der Schlußfolgerungen Bertarellis (2), welche letztere besagen, daß mit der passiven Immunisation der Neugeborenen mit Milch von aktiv immunisierten Tieren praktische Erfolge erzielt werden können.

Für die Erhaltung der gegen Tuberkulose hyperimmunisierten und somit an spezifischen Antikörpern reichen Kuhmilch hat schon Behring den Zusatz kleiner Mengen Formalin zur Milch angeraten. Seine bezüglichen Untersuchungen haben dargetan, daß die Eingabe von Formaldehyd bis zu 2‰ auf verschiedenen Wegen, wie aus Versuchen mit den gewöhnlichen Tieren hervorging, keinen Schaden erzeugt, sowie daß in Proportionen von 1:5000—1:10000 die Milch sich auch hinsichtlich ihres Schutzvermögens gegen Tuberkulose 8—12 Tage unverändert halten kann, ohne irgendwelchen besonderen Geruch noch Geschmack anzunehmen.

In dieser Richtung habe ich nun mehrere Versuchsreihen ausgeführt, um ausfindig zu machen, welche tatsächliche Wirkung das Formalin auf die Milch ausübt und ob der Beisatz dieser Substanz auch in den kleinen, von Behring für die Praxis empfohlenen Dosen in den verschiedenen Bestandteilen der Milch Veränderungen hervorzubringen imstande ist.

Da nun in der letzten Zeit von verschiedenen Autoren (Cao, Renard, Duclaux) das Wasserstoffsperoxyd als Mittel zur Erhaltung der Milch wieder zu Ehren gebracht worden ist, so hielt ich es für angebracht, meine Versuche gleichzeitig auch auf Wasserstoffsperoxyd auszudehnen, um so die Einwirkungsweise dieser zwei Substanzen vergleichen und daraus ihren Wert ableiten zu können.

Meine nachstehend näher angeführten Untersuchungen sollten nun vor allem feststellen:

- 1) das Verhalten des Labferments gegenüber einer mit verschiedenen Quantitäten Formalin und Wasserstoffsuperoxyd vermengten Milch;
- 2) die Wirkung des Formalins und des Wasserstoffsuperoxyds auf die in der Milch präexistierenden löslichen Fermente;
- 3) das Verhalten der mit Formalin und Wasserstoffsuperoxyd gemischten Milch gegenüber der Einwirkung von künstlichen Fermenten;
- 4) in welchen Dosen diese Substanzen der Milch beigesetzt werden müssen, damit der praktisch erforderliche Vorteil erhalten wird.

Die Wirksamkeit des Labferments in der mit Formalin und Wasserstoffsuperoxyd vermischten Milch.

Verschiedene Forscher haben sich schon früher mit der Frage abgegeben, welche Veränderungen das Formalin in den verschiedenen proteischen Stoffen hervorrufen kann. Die ersten derartigen Versuchsergebnisse von Blum wurden später von Bach und Benedicenti (3) bestätigt, die Gelatine, Fibrin, Blutserum, Kasein, Eiweiß lange Zeit in Berührung ließen mit Formaldehydlösungen und dann deutliche, in den Eigentümlichkeiten und Eigenschaften dieser Stoffe vorgehende Veränderungen zu beobachten im stande waren.

Im allgemeinen aber wurden von diesen, wie auch von den anderen Autoren, die auf diese Frage näher eingegangen waren, große Quantitäten Formalins verwandt, die die von Behring zur Erhaltung der Milch empfohlenen bei weitem übertrafen. Ganz neuerdings hat jedoch E. Loewenstein (4) in dem Bestreben, die eventuell von kleinen Quantitäten Formalin in der Milch erzeugten Veränderungen ans Licht zu ziehen, und chemisch vielleicht nicht wahrnehmbare Einflüsse zu erkennen, das Verhalten einer so formalinisierten Milch gegenüber dem Labferment eingehend studiert.

Ich hielt es nun für nützlich, diese Versuche zu wiederholen, erstens um zu sehen, ob meine Ergebnisse mit denen Loewensteins übereinstimmen, und um dann die gleiche Untersuchung auch auf die mit Wasserstoffsuperoxyd vermischte Milch auszudehnen, was meines Wissens bis jetzt wenigstens genau und systematisch noch nicht geschehen ist.

Zu diesem Zwecke habe ich mich des direkt von dem Hause Merck gekommenen pulverisierten Labfermentes bedient. Damit bereitete ich eine erste Lösung in destilliertem und sterilisiertem Wasser in Proportionen von 1:10000. Ein Kubikcentimeter dieser Lösung (die ich Normaldosis nennen werde) gab mir innerhalb 3 Stunden konstante Gerinnung mit 5 ccm Milch.

Um nun das Verhalten des Labes gegenüber der mit besagten Desinfektionsmitteln vermengten Milch deutlicher hervortreten zu lassen, stellte ich drei andere verschiedene Labfermentlösungen her, die eine stärkere Konzentration besaßen und zwar derart, daß 1 ccm jeder derselben (stets im Verein mit 5 ccm Milch) 5—50—100mal die Normaldosis des Labs enthielt.

Außerdem präparierte ich eine Reihe Lösungen aus Formalin und Wasserstoffsuperoxyd (Merck) verschiedener Titres, immer aber so, daß 1 ccm dieser Lösungen zusammen mit 5 ccm Milch mir die Milch in der gewünschten und auf nachstehenden Tabellen angegebenen Weise



Tabelle I. Zusatz des Labs sowie der Desinfektionslösungen.

	1-fache Labdosie			5-fache Labdosie			50-fache Labdosie			100-fache Labdosie		
	1 Std.	3 Std.	6 Std.	1 Std.	3 Std.	6 Std.	1 Std.	3 Std.	6 Std.	1 Std.	3 Std.	6 Std.

5 ccm Milch + Formalin.												
1—250	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1—500	0	0	0	0	0	0	+	0	+	0	+	
1—1000	0	0	+	0	0	+	+			+		
1—2500	0	+		0	+		+			+		
1—5000	0	+		0	+		+			+		
1—10000	0	+		0	+		+			+		
Nachprüfung	0	+		0	+		+			+		

5 ccm Milch + Wasserstoffsuperoxyd.												
1—250	0	+		0	+		+			+		
1—100	0	+		0	+		+			+		
1—50	0	+		0	+		+			+		
1—25	0	+		0	+		+			+		
Nachprüfung	0	+		0	+		+			+		

Tabelle II. Labzusatz nach 6 Stunden.

5 ccm Milch + Formalin.												
1—250	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1—500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1—1000	0	0	0	0	0	0	+			+		
1—2500	0	+		0	+		+			+		
1—5000	0	+		0	+		+			+		
1—10000	0	+		0	+		+			+		
Nachprüfung	0	+		0	+		+			+		

5 ccm Milch + Wasserstoffsuperoxyd.												
1—250	0	+		0	+		+			+		
1—100	0	+		0	+		+			+		
1—50	0	+		0	0	+	+			+		
1—25	0	+		0	+		+			+		
Nachprüfung	0	+		0	+		+			+		

Tabelle III. Labzusatz nach 12 Stunden.

5 ccm Milch + Formalin.												
1—250	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1—500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1—1000	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	+
1—2500	0	+		0	+		+			0	+	
1—5000	0	+		0	+		+			+		
1—10000	0	+		0	+		+			+		
Nachprüfung	0	+		0	+		+			+		

5 ccm Milch + Wasserstoffsuperoxyd.												
1—250	0	+		0	+		+			+		
1—100	0	+		0	+		+			+		
1—50	0	+		0	+		+			+		
1—25	0	0	+	0	+		+			+		
Nachprüfung	0	+		0	+		+			+		

Tabelle IV. Labzusatz nach 48 Stunden.

5 ccm Milch + Formalin.												
1—250	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1—500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1—1000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1—2500	0	0	+	0	0	+	0	+		0	+	
1—5000	0	0	+	0	+		0	+		+		
1—10000	0	0	+	0	+		+			+		
Nachprüfung	0	+		0	+		+			+		

	1-fache Labdosis			5-fache Labdosis			50-fache Labdosis			100-fache Labdosis		
	1 Std.	3 Std.	6 Std.	1 Std.	3 Std.	6 Std.	1 Std.	3 Std.	6 Std.	1 Std.	3 Std.	6 Std.

5 ccm Milch + Wasserstoffsuperoxyd.												
1-250	0	+		0	+		+			+		
1-100	0	+		0	+		+			+		
1-50	0	0	+	0	0	+	+			+		
1-25	0	+		0	+		+			+		
Nachprüfung	0	+		0	+		+			+		

Tabelle V. Labzusatz nach 96 Stunden.

5 ccm Milch + Formalin.												
1-250	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1-500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1-1000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1-2500	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1-5000	0	0	0	0	0	+	0	0	+	+		
1-10000	0	0	0	0	0	+	0	+		+		
Nachprüfung	0	+		0	+		+			+		

5 ccm Milch + Wasserstoffsuperoxyd.												
1-250	0	+		0	+		+			+		
1-100	0	+		0	+		+			+		
1-50	0	+		0	+		+			+		
1-25	0	+		0	+		+			+		
Nachprüfung	0	+		0	+		+			+		

titulierte, wobei ich mich, was das Formalin anbetrifft, auf seinen Gehalt an reinem Aldehyd bezog.

Daraus geht nun deutlich hervor, daß, welches auch immer die Konzentration des Desinfektionsmittels und welches auch die des Labs sein mochte, es doch immer 1 ccm der desinfizierenden Lösung war und 1 ccm der Lablösung, der ich 5 ccm Milch beizufügen hatte, um so das gleiche Flüssigkeitsvolumen zu erhalten.

Der Titre der verwendeten Formalin- und Wasserstoffsuperoxydlösungen, die Berührungsdauer derselben vor Einsetzen des Labferments, die Zeit, die die Milchproben ununterbrochen im Brutschrank blieben, sowie das bei diesen Versuchen beobachtete Verfahren sind aus den vorstehenden Tabellen, denen ich der Kürze halber auch die dabei erhaltenen Daten angereiht habe, deutlich ersichtlich.

Aus diesen Tabellen ist nun deutlich ersichtlich, daß die auch nur mit ganz kleinen Mengen Formalin vermengte Milch mit dem Labferment nicht mehr auf dieselbe Weise reagiert wie die normale Milch, sowie daß diese Veränderung desto deutlicher zu Tage tritt, je länger das Formalin einwirkt und je größer die in Verwendung gekommene Quantität ist.

Es kann da auch nicht der Gedanke auftauchen, daß die verspätete oder überhaupt eingetretene Gerinnung der mit Formalin vermischten Milch der durch die Einwirkung des Formalins verminderten Energie des Labferments zugeschrieben werden könne, da die Forschungen Freudenreichs und die Erfahrungen Loewensteins dargetan haben — wovon ich mich auch selbst überzeugt — daß die Formalinlösungen auch bei entsprechend starken Dosen keinerlei Veränderungen von Labferment hervorzubringen vermögen. Schon die Tatsache an und für sich, daß die mit derselben Dosis Formalin vermengte Milchprobe dem Ferment gegenüber in ganz verschiedener Weise

reagiert, je nach dem mehr oder minder langen Zusammensein des Formalins mit der Milch, tut dar, daß die gesamte Gerinnung nicht der durch das in Frage stehende Desinfektionsmittel hervorgerufenen verminderten Wirksamkeit des Labs zugeschrieben werden darf.

Was dagegen den Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd betrifft, so ist das damit erhaltene Ergebnis ganz und gar verschieden gewesen. Wie nämlich aus den vorstehenden Tabellen ersichtlich ist, bewirkt der Zusatz dieser Substanz auch bei starken Dosen — bis zu 4 Proz. — in der Milch keinerlei Veränderung bezüglich des Koagulationsvermögens des Labes, selbst nicht nach 96-stündiger Einwirkung.

### Einwirkung des Formalins und des Wasserstoffsuperoxyds auf die in der Milch enthaltenen löslichen Fermente.

Die Gegenwart löslicher Fermente in den verschiedenen Milcharten, wie solche hauptsächlich durch die Forschungen der letzten Jahre festgestellt worden ist, hat die Aufmerksamkeit der Fachmänner einer Reihe interessanter Fragen zugewendet und dem Forschungstrieb neue Wege eröffnet.

Der erste Forscher, der die Gegenwart von Fermenten in der Milch festgestellt hat, ist der Chemiker Béchamp (5) 1883, indem er eine Diastase in der Frauenmilch nachwies (die er Galaktozymase nannte), die Stärke in Milchzucker zu verwandeln vermochte und in der Kuh- und Eselsmilch und der anderer Säugetiere nicht aufgefunden werden konnte. Im Jahre 1885 stellte dann auch Bouchut (6) das Vorhandensein dieses stärke-spaltenden Fermentes in der Milch fest.

Im Jahre 1898 folgten in dieser Richtung die Arbeiten Maros (7), in denen Verf. an der Hand systematischer Nachforschungen die Entdeckung Béchamps bestätigte und einen neuen Beitrag lieferte zur Kenntnis von der Milchamylase.

Kurz darauf veröffentlichte Marfan (8) die ersten Ergebnisse seiner zusammen mit Gillet über die Lipasis und das oxydierende Ferment der Milch angestellten Versuche, wonach dann noch im selben Jahre die Arbeit Nobecourts und Merklens (9) über das hydratierende Ferment folgte, das das Salol in seine Einzelbestandteile zu spalten vermag.

Diesen Forschungen folgten auf dem Fuße diejenigen Serratis und Biolchinis (10), sowie die interessanten Studien Spolverinis (11), die das Vorhandensein anderer in der Milch bestehender Fermente aufdeckten, darunter ein Trypsin-, ein Pepsin- und ein glukolytisches Ferment.

Die kürzliche Entdeckung Moros (12), die schon von Bernheim und Karrer (13) bestätigt worden ist, das Vorhandensein eines Fibrin-fermentes in der Frauenmilch, das im stande ist, die Gerinnung der Hydrocelenflüssigkeit herbeizuführen, vervollständigt dann die Reihe der löslichen Fermente der Milch, die bis heute vorgefunden worden sind.

Aber selbst als die Gegenwart solcher Fermente festgestellt war, blieb man doch noch eine gewisse Zeit lang darüber im unklaren, was diese Fermente zu bedeuten haben und wie weit ihre Bedeutung geht, und zwar so lange, bis Escherich (14) auf dem letzten Internationalen Kongreß zu Paris seine neue Theorie vorbrachte, die dann auch von Marfan (15) und Concetti (16) unterstützt wurde.

Nach Escherich besitzen diese löslichen Fermente eine weit-

gehende Bedeutung, denn er glaubt, daß die Milch keine untätige Flüssigkeit ist, sondern eine Substanz, die einiger der den Geweben eigentümlichen Eigenschaften teilhaftig ist, eben weil sie lösliche Fermente enthält, die aller Wahrscheinlichkeit nach reizend und regulierend auf die Ernährungsvorgänge einwirken sollen, genau so, wie der Organismus in den Geweben solche ausarbeitet als Ersatz bei Insuffizienz der inneren Sekretionen.

Wenn man dann beobachtet, daß unter den Milchfermenten sich solche finden, die einer oder mehreren Milchsorten eigentümlich sind, so läßt sich daraus leicht ableiten, weshalb die Muttermilch durch keine Tiermilch vollwertig ersetzt werden kann, woraus also wiederum die Minderwertigkeit der künstlichen Ernährung gegenüber der mit Muttermilch entspringt.

Nachdem nun mit der Theorie Escherichs den löslichen Fermenten eine so weitgehende Bedeutung erstanden ist, die allgemein anerkannt wird, hielt ich es im Interesse der Gründlichkeit meiner Arbeit für angebracht, darzutun, ob der Zusatz der von mir verwandten Desinfektionsmittel bemerkenswerte Veränderungen im Verhalten dieser Fermente und Modifikationen derselben hervorzubringen im stande ist.

Wie ich dafür jedesmal vorging, wird bei Erörterung der verschiedenen Fermente jedesmal ausführlicher beschrieben werden. Hier will ich nur darauf hinweisen, daß mir zu allen Versuchen eine Kuhmilch diene, die in einer in der Nähe des Hygienischen Instituts befindlichen Milchanstalt gemolken und dann sofort von mir selbst ins Laboratorium verbracht wurde.

Wer zur Prüfung der Milchfermente schreiten will, muß selbstverständlich darauf bedacht sein, mit absolut steriler Milch zu arbeiten. Obgleich nun zu meinen Versuchen diese absolute Sterilität weniger von Wichtigkeit war, insofern, als ich der zu prüfenden Milch desinfizierende Lösungen beizufügen hatte, so habe ich doch bei Ab- und Aufnahme der Milch alle Sorgfalt darauf verwendet, dieselbe möglichst keimfrei zu erhalten, da ich sowohl zu Studien- als auch zu Kontrollzwecken auch für mich selbst in den Proben normaler Milch das Vorhandensein dieser Fermente feststellen wollte.

### Amylolytisches Ferment.

Wenngleich es mir nun vor allem darum zu tun war, Versuche mit Kuhmilch anzustellen, so war es doch auch mein Wunsch, in den Kreis meiner Versuche auch dieses Ferment hineinzuziehen, das, wie ich bereits erwähnt habe, im Jahre 1883 von Béchamp entdeckt und darauf von Bouchut, Spolverini, Nobecourt und Sévin (17) eingehend studiert wurde.

Wie aus den Forschungen genannter Autoren erhellt, findet sich dieses Ferment in der Frauen-, Hunde- und Eselsmilch, fehlt aber in der Kuh- und Ziegenmilch. Seine Wirksamkeit leidet in keiner Weise unter dem Einfluß niederer Temperaturen; sein Funktionsvermögen tritt auch bei einer Temperatur von 38—40°, bei einem Minimum von 12 Stunden für die Frauenmilch und einem Maximum von 32—38 Stunden für die Eselsmilch sehr gut zu Tage.

Es wurde dabei auf folgende Weise vorgegangen:

Jedem Röhrchen, in das ich zuvor 5 ccm Frauenmilch geschüttet hatte, setzte ich 1 ccm der Desinfektionslösungen bei, die, wie ich bereits erwähnt habe, zuvor in verschiedener Konzentration angefertigt worden

waren. Daraufhin ließ ich eine gewisse Zeit vergehen (siehe Tabelle VI), damit das Desinfektionsmittel seine Wirkung ausüben könne; war diese abgelaufen, so fügte ich jedem Röhrchen 2 ccm einer 2-proz., zuvor sterilisierten Stärkelösung bei. Darauf kamen die Röhrchen in den Brutofen, dem ich sie nach einer bestimmten Zeit entnahm, um zur Prüfung der Milch zu schreiten, woraus sich mir ergeben sollte, ob das vorhandene Ferment eine Wirkung auf die Stärke ausgeübt hat und mit welcher Energie.

Zu diesem Zwecke trennte ich durch Beisatz von Essigsäure das Kasein von der Milch und filtrierte. Auf das Filtrat goß ich sodann einige Tropfen Jodjodkaliumlösung (5 Tropfen in 25 ccm destillierten Wassers). Aus der Farbe, die die Flüssigkeit annahm, konnte ich dann erkennen, ob die Umwandlung der Stärke vor sich gegangen war oder nicht, und bis zu einem gewissen Punkte auch, ob diese Umwandlung sich allein auf das Erythrodextrin beschränkt hatte oder aber selbst bis zum Achrodextrin gelangt war.

Tabelle VI. Frauenmilch.

	Stunden des Verbleibens des Desinfektionsmittels in der Milch	Stunden des Verbleibens im Brutofen bei 37°	Erythrodextrin	Achrodextrin
5 ccm Milch + Formalin				
1—5000	36	12		+
1—5000	48	12		+
1—500	36	12		+
1—500	48	24		+
5 ccm Milch + Wasserstoffsuperoxyd				
1—250	24	12		+
1—250	48	24		+
1—50	24	12		+
1—50	48	12		+
Nachprüfung		12		+
"		12		+

Meine in vorstehender Tabelle zusammengefaßten Versuche sind auf die qualitative Analyse des Ferments beschränkt geblieben. Denn diese wies so deutlich nach, daß das der Milch in dem gegebenen Verhältnis beigefügte Formalin und Wasserstoffsuperoxyd nicht den geringsten Einfluß auf das amylolytische Ferment auszuüben vermochte, daß ich mir jede quantitative Prüfung ersparen zu können glaubte.

### Oxydierendes Ferment.

Die Gegenwart dieses Fermentes in der Milch war fast ganz zu Beginn zusammen mit der Analyse von Arnold (18) im Jahre 1881 festgestellt worden, als dieser Autor als erster darauf hinwies, daß die frische Kuhmilch, sobald ihr ein wenig Guajaktinktur beigegeben wird, rasch eine blaue Farbe annimmt, doch schrieb dieser Autor diese Erscheinung seiner Zeit nicht der Einwirkung von Fermenten zu.

Später gelang es dann Marfan, mit neuen, auf die schon von Arnold nachgewiesene Tatsache sich fußenden Untersuchungen, festzustellen, daß die Kuhmilch ein zur Gruppe der löslichen Fermente gehörendes oxydierendes Ferment enthält.

Dieses Ferment ist in der Kuhmilch äußerst wirksam, schon weniger in der Eselmilch und nur ganz wenig in der Frauen- und Hundemilch.

Neuerdings haben Gillet (19) und auch Raudnitz dieses Ferment in dem Colostrum der Frau ziemlich energisch gefunden und dann überdies wahrgenommen, daß es 6—12 Tage nach der Geburt verschwindet. Die Anwesenheit dieser Oxydase ist nach Gillet an das Vorhandensein von vielkernigen Leukocyten im Colostrum gebunden; sie verschwindet dann langsam, sobald sich die Milch bildet und also die Leukocyten seltener werden.

Das bei dieser Prüfung beobachtete Verfahren ist sehr einfach: Nach Eingabe von 5 ccm Milch, die stets mit größter Vorsicht abgenommen worden ist, in die gewohnten Röhrchen, führte ich in jedes derselben 1 ccm der verschiedenen Formalinlösungen ein, und ging dann nach Ablauf der vorherbestimmten Zeit (siehe Tabelle VII) an die Aufsuchung des Fermentes, indem ich der Milch zuvor einige Tropfen Guajaktinktur beisetzte. Die erfolgte oder ausgebliebene eigentümliche Färbung zeigte mir dann an, ob die Wirksamkeit des Fermentes unverändert geblieben war oder aber sich abgeschwächt hatte oder ganz verschwunden war.

Tabelle VII. Kuhmilch.

5 ccm Milch + Formalin	Stunden des Ver- bleibens des Des- infektionsmittels in der Milch	Stunden des Ver- bleibens im Brut- ofen bei 37°	Reaktion
1—5000	48	10	+
1—5000	96	10	+
1—500	48	10	+
1—500	96	10	+
Nachprüfung		10	+
„		10	+

Bei dieser Versuchsreihe habe ich mich immer der Guajaktinktur bedient, obgleich W. Rullmann (20) zur Unterscheidung zwischen roher und gekochter Milch die Storchsche Reaktion mit Paraphenylendiamin vorschlägt, die er für viel empfindlicher hält als die Schar-dingersche (21) mit Methylenblau und die klassische mit Guajaktinktur. Ich für meinen Teil habe jedoch die Erfahrung gemacht, daß, wenn die Guajaktinktur sehr klar und wenigstens 3 Monate alt ist, die Reaktion stets energisch und rasch auftritt, wie dies übrigens auch die Versuche Webers (22) bestätigen.

Wie aus der vorstehenden, einige Daten meiner Versuche umfassenden Tabelle ersichtlich ist, ist das oxydierende Ferment durch die Wirkung des der Milch selbst in starken Dosen beigesetzten Formalins in keiner Weise beeinträchtigt worden.

(Forts. folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Untersuchungen über die bakterizide Kraft des Rohlysoforms.

[Aus dem bakteriologischen Institute der Haupt- und Residenzstadt  
Budapest. Leiter: Doz. Dr. B. Vas.]

Von Dr. Edmund Ströszner, Assistenten des Institutes.

Das Lysoform, das im Jahre 1899 von Dr. Stephan dargestellt wurde, war der Gegenstand zahlreicher bakteriologischer und toxikologischer Untersuchungen, denen es seine Verbreitung sowohl in der ärztlichen Praxis als in der öffentlichen Gesundheitspflege zu danken hat.

Um dem Lysoform auch in der Großdesinfektion die ihm gebührende Stelle zu sichern und es permanent in den Dienst derselben zu stellen, wofür wohl sein bisher etwas höherer Preis als der der gebräuchlichsten Desinfektionsmittel (Sublimat, Lysol, Creolin etc.) ein Hindernis zu sein schien, stellte man das sogenannte Rohlysoform dar, das nach Angabe der Darsteller dieselbe Formaldehydmenge (7 bis 8 Proz.) enthält, wie das gewöhnliche Lysoform; es ist ebenso, wie das letztere, eine konzentrierte, alkoholische Kaliseifenlösung, die mit Formaldehyd gesättigt ist, nur ist es frei von ätherischen Ölen, welche letztere in dem gewöhnlichen Lysoform keinen anderen Zweck hätten, als den Formaldehydgeruch des Präparates zu decken.

Das Rohlysoform hat demnach einen etwas stärkeren Geruch nach Formaldehyd, der jedoch bei weitem nicht so intensiv ist wie der des Formalins.

Das Präparat unterscheidet sich jedoch sonst hinsichtlich seiner physikalischen Eigenschaften in nichts von dem gewöhnlichen Lysoform; es ist klar, durchsichtig und löst sich in jedem Verhältnisse in Wasser.

Das Rohlysoform hat weder im konzentrierten Zustand, noch in Lösung ätzende Eigenschaften, übt auf der äußeren Haut keine Reizwirkung aus, es sind also damit oberflächliche Verschorfungen oder Verätzungen der Haut — was z. B. mit Karbol nicht ausgeschlossen ist — vollkommen vermieden.

Auf Wäsche, Fußböden, Möbeln etc. verursacht es keine Flecke, vielmehr hat es zufolge seines Gehaltes an Seife auch eine reinigende Wirkung, was bei der Großdesinfektion ein großer Vorzug des Präparates ist, indem es zur Entfernung starker klebenden Schmutzes und Flecke beiträgt.

Das Rohlysoform greift vernickelte ärztliche Instrumente in 3 bis 5-proz. Lösung nicht an. Selbst nach tagelangem Verweilen darin konnten wir an ihnen nicht die geringste Veränderung konstatieren. Die vernickelten Pinzetten, Scheren etc., die wir in Rohlysoformlösungen gaben, behielten ihren Glanz und blieben unversehrt.

Auch Katheter zeigten, in 3–5-proz. Lösungen belassen, keine sichtbaren Veränderungen. Selbst die so empfindlichen französischen Seidenkatheter, die wir nach dieser Richtung hin prüften, blieben nach einigen Stunden noch intakt.

Die vielfach gerühmte desodorisierende Wirkung des gewöhnlichen Lysoforms müssen wir auch beim Rohlysoform besonders hervorheben und sie vollauf bestätigen.

Um diese zu prüfen, bereiteten wir mit frischgelassenem Harn eine 1-, 2-, 3-, 4- und 5-proz. Rohlysoformlösung, die bei Zimmertemperatur belassen wurde. Während der Probeharn schon am nächsten Tage einen sehr üblen Geruch hatte, war nach vielen Tagen selbst an dem 1-proz. Rohlysoformharn nur ein schwacher Formaldehydgeruch zu verspüren.

Stark ammoniakalischer Harn verliert nach Hinzugabe von Rohlysoform fast momentan seinen üblen Geruch.

Um die bakterizide Kraft des Präparates<sup>1)</sup> zu prüfen, verwendeten wir verschiedene Mikroorganismen. Dabei stellten wir uns die Frage zur Beantwortung, ob das Rohlysoform hinsichtlich seiner Desinfektionsfähigkeit mit dem ursprünglichen Lysoform gleichwertig sei oder nicht.

Auch hielten wir uns vor Augen, die Widersprüche, die in den diesbezüglichen Angaben der verschiedenen Autoren sich finden, möglichst zu klären.

Diese Umstände beeinflussten natürlich auch unsere Methodik. Wir benützten nämlich die älteren Methoden der Untersuchung der bakteriziden Kraft eines chemischen Mittels, wobei es uns auch daran gelegen war, die Frage der praktischen Anwendbarkeit des Rohlysoforms auf Grund derselben zu beantworten. Zum exakten, wissenschaftlichen Studium über das Verhalten der Bakterien gegenüber desinfizierenden Mitteln sind diese Methoden wohl nicht ganz einwandfrei und müssen andere, modernere an ihre Stelle treten.

Um jedoch die desinfizierende Leistung des Rohlysoforms in praktischer Hinsicht zu prüfen, hielten wir die unten näher beschriebenen Versuche für vollständig geeignet, um so mehr als wir eine ähnliche Anordnung der Versuche auch bei anderen Autoren, die mit Lysoform arbeiteten, fanden und wir behufs Vergleichung ihrer Untersuchungsergebnisse mit den unserigen, ihre Methodik einhalten zu sollen, für begründet hielten.

Der Gang der Untersuchung war nun folgender:

In den zwei ersten Versuchsreihen wurden 6 Mikroorganismenarten verwendet und zwar:

- 1) *Staphylococcus pyogenes albus* (gezüchtet kurz vor den Versuchen aus einem phlegmonösen Absceß);
- 2) *Bacillus typhi abdominalis* (Stamm aus dem „Institute für Infektionskrankheiten“ in Berlin);
- 3) *Bacterium coli* (Stamm Král aus Prag);
- 4) *Spir. cholerae asiaticae* (Stamm aus dem „Institute für Infektionskrankheiten“ in Berlin);
- 5) Anthraxsporen (hergestellt aus einem Stamme unseres Institutes).

I. Es wurden auf die bekannte Art und Weise, in trockener Hitze sterilisierte Seidenfäden mit diesen Mikroorganismen, resp. der Bouillonkultur derselben getränkt und dann getrocknet.

Die so imprägnierten Seidenfäden brachten wir dann in 1-, 2-, 3-, 4- und 5-proz. Lösungen von Rohlysoform, aus denen sie in bestimmten Zeiträumen und zwar (in der 10-stündigen Versuchszeit) stündlich entnommen wurden. Dieselben wurden in sterilem Wasser gründlich ausgewaschen und hernach in Bouillon gebracht.

1) Das zu den Versuchen verwendete Rohlysoform stellte uns die chemische Fabrik Dr. Keleti & Murányi in Ujpest zur Verfügung.



Selbstverständlich wurden von den zu diesen Versuchen verwendeten Seidenfäden Kontrollkulturen in Bouillon angelegt, die alle positiv ausfielen.

Das Ergebnis der Versuche mit imprägnierten Seidenfäden gibt die Tabelle I.

Tabelle I. Imprägnierte Seidenfäden mit Rohlysoform behandelt, dann in Bouillon gegeben.

Roh- lysoform	Staphylococcus pyog. alb.										Bac. typhi									
	Stunden										Stunden									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1 Proz.	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
2 „	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 „	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4 „	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	30' 45' 60' 90'	+	+	+	+	—	—	—	—	—	30' 45' 60' 90'	+	+	—	—	—	—	—	—	—

Roh- lysoform	Bact. coli										Spir. chol. asiat.				Anthraxsporen									
	Stunden										Stunden				Stunden									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1	2	3	4	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1 Pr.	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	15' 30' 45' 60'	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
2 „	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—	+	—	—	—	—	—	—
3 „	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
4 „	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
5 „	30' 45' 60' 90'	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—

+ = Wachstum.

— = kein Wachstum.

Was die Typhus- und Coli-Bacillen anbelangt, so springt hier deutlich ins Auge, daß die Typhusbacillen dem Rohlysoform gegenüber eine geringere Resistenz zeigen als die Coli-Bacillen, was aber mit den bisher bekannten Tatsachen übereinstimmt.

1-proz. Rohlysoform vernichtet die Typhusbacillen innerhalb 3 Stunden, während die Coli-Bacillen erst in 4 Stunden getötet werden.

2-proz. Rohlysoform tötet schon in 1 Stunde die Typhusbacillen, die Coli-Bacillen erst in 3 Stunden.

Je höher die Konzentration des Rohlysoforms steigt, desto geringer werden diese Zeitdifferenzen. So z. B. gehen die Typhusbacillen in 5-proz. Rohlysoform innerhalb 1 Stunde, die Coli-Bacillen innerhalb 1½ Stunden zu Grunde.

Eine auffallende Resistenz zeigt der *Staphylococcus pyog. alb.*, den eine 1-proz. Rohlysoformlösung erst in 6 Stunden, eine 5-proz. in 2 Stunden tötet.

Die Versuche mit den an Seidenfäden angetrockneten Cholera-spirillen fielen durchgehend negativ aus, obwohl in den Kontrollröhrchen die Kulturen positiv ausfielen.

Uebersaus günstig sind die Erfolge mit Anthraxsporen.

5-proz. Rohlysoform tötet sie schon innerhalb 2 Stunden, in 1-, 2-, 3- und 4-proz. Konzentration in 3 Stunden.

Allerdings ist nicht außer acht zu lassen, daß in der Versuchsreihe 2-proz. Rohlysoform die Anthraxsporen in der 4. Stunde nicht vernichtete. Unser Urteil muß daher dahin ergänzt werden, daß es vorkommen kann, daß 2-proz. Rohlysoform erst innerhalb 5 Stunden auf Anthraxsporen deletär wirkt.

Diese — wenn wir uns so ausdrücken dürfen — Ungesetzmäßigkeit veranlaßte uns, die Versuche nochmals zu wiederholen, doch kamen wir zu der Erfahrung, daß sie selbst bei der größten Vorsicht nicht zu umgehen ist. Vielleicht ist unter anderem die Ursache darin gelegen, daß die Seidenfäden nicht gleichförmig imprägniert werden können und daß es nicht ganz zu umgehen ist, daß einzelne Fäden zufolge stärkeren Schüttelns der Wirkung des Desinficiens besser ausgesetzt sind als andere.

Vielleicht spielt auch die Seifenwirkung eine Rolle, die die Ablösung der an den Seidenfäden angetrockneten Sporen befördert.

II. Um also die eben erwähnten Unregelmäßigkeiten, die bei den Versuchen mit Seidenfäden nicht zu umgehen waren, möglichst auszuschalten, machten wir Desinfektionsversuche in flüssigen Medien.

Wir verteilten die Bakterien in dem Desinficiens ganz gleichmäßig, wobei wir, wie folgt, vorgehen:

Kräftig angelegte Agarkulturen wurden mit ungefähr 10 ccm sterilem Wasser überschüttet und dann mit einer kräftigen Platinnadel abgeschabt, so daß wir eine Aufschwemmung der Bacillen — und auch der auf Agar gewonnenen Anthraxsporen — erhielten.

Von den Bacillenaufschwemmungen gaben wir dann aus sterilen Pipetten je  $\frac{1}{2}$  ccm in 10 ccm 1-, 2-, 3-, 4- und 5-proz. Rohlysoform, das sich in einer Epruvette befand, und impften dann eine Oese voll in gewissen Intervallen auf Agar. Die Platinöse wurde in dem Kondenswasser kräftig hin und her bewegt, um das in der Oese befindliche Rohlysoform vor der Ueberimpfung auf Agar möglichst zu verdünnen und seine entwicklungshemmende Wirkung auf dem Agar auszuschalten.

Die so geimpften Agarröhrchen wurden dann in den Thermostaten gestellt.

Tabelle II. Bacillenaufschwemmung in Rohlysoform; Ueberimpfung auf Agar.

Roh- lysoform	Staphylococcus pyog. alb.										Bac. typhi															
	Minuten					Stunden					Minuten										Stunden					
	10	15	20	30	45	1	2	3	4	1/2	1	1 1/2	5	10	15	20	25	30	45	1	2	3	4			
1 Proz.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—			
2    "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—			
3    "	+	+	+	+	—	—				+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—			
4    "	+	+	+	+	—	—				+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—			
5    "	+	+	+	+	—	—				+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—			

Roh- lysoform	Bact. coli										Spir. chol. asiat.										Anthraxsporen												
	Minuten					Stunden					Minuten					Std.					Stunden												
	1/2	1	1 1/2	5	10	15	20	25	30	45	1	2	3	4	2 1/2	5	10	15	20	30	45	1	2	3	1	2	3	4	5	6	7	8	10
1 Proz.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
2    "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	+	+	+	+	—	—	—	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
3    "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—	
4    "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	—	—	—	—	—	
5    "	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	

+ = Wachstum.

— = kein Wachstum.

Die Resultate sind in der Tabelle II zusammengestellt.

Sehen wir uns die Resultate in ihren Hauptzügen an, so finden wir, daß hier die Choleraspirillen in 1-proz. Rohlysoform innerhalb 1 Stunde, in 2-proz. in 15 Minuten noch nicht zu Grunde gegangen sind.

Die Ursache dieser Differenz gegenüber der I. Versuchsreihe dürfte darin liegen, daß bekannterweise die Choleraspirillen sehr empfindlicher Natur und gegen Austrocknung außerordentlich vulnerabel sind, wie dies schon Koch seinerzeit bewiesen hat. Es haben also auf Seidenfäden angetrocknete Choleraspirillen eine bedeutend geringere Resistenz als solche in Bouillon und ist demnach auch ihr Verhalten gegenüber dem Desinficiens ein verschiedenes.

In 3- und 4-proz. Rohlysoform gehen die Choleraspirillen in 10 Minuten, in 5-proz. schon in  $2\frac{1}{2}$  Minuten zu Grunde.

Auf Typhusbacillen wirkt 1- und 2-proz. Rohlysoform in 3 Stunden, 3-proz. in 1 Stunde, 4-proz. in 45 Minuten, 5-proz. in 30 Minuten deletär.

Colibacillen tötet 2-proz. Rohlysoform in 3 Stunden, 3-proz. in 1 Stunde, 4- und 5-proz. in 45 Minuten.

Anthraxsporen werden vom 1- und 2-proz. Rohlysoform in 10 Stunden, vom 4-proz. in 4 Stunden und vom 5-proz. innerhalb einer Stunde getötet.

Milzbrandsporen zeigen also bei dieser Versuchsanordnung dem Desinficiens gegenüber ein resistenteres Verhalten als Sporensidenfäden.

III. Außer den angeführten Bakterien prüften wir auch das Verhalten der Diphtheriebacillen gegenüber dem Rohlysoform, indem wir auf Löfflerschem Blutserum gezüchtete Diphtheriebacillen mit Rohlysoformlösung überschütteten und dann durch Abschaben und starkes Schütteln eine Diphtheriebacillenaufschwemmung erhielten.

Die Ueberimpfungen wurden wie vorher gemacht, jedoch nicht auf Agar, sondern auf Blutserum.

Der Erfolg war (siehe Tabelle III), daß 1—4-proz. Rohlysoform die Diphtheriebacillen in 1 Stunde, 5-proz. in 15 Minuten tötete.

Tabelle III. Diphtheriebacillenaufschwemmung in Rohlysoform; Ueberimpfung auf Blutserum.

Rohlysoform	5'	10'	15'	30'	60'
1 Proz.	+	+	+	+	—
2 „	+	+	+	+	—
3 „	+	+	+	+	—
4 „	+	+	+	+	—
5 „	+	+	—	—	—

+ = Wachstum.

— = kein Wachstum.

IV. Stellten wir ferner Untersuchungen an, wie sich infizierte Katheter in Rohlysoform verhalten, resp. wie lange es dauert, bis sie das Rohlysoform steril macht.

Wir infizierten zu diesem Zwecke Stücke von Nélaton- und französischen Seidenkathetern mit Bact. coli, indem wir sie in frisch bereiteter Coli-Bouillon liegen ließen und dann in (1-, 2-, 3-, 4- und 5-proz.) Rohlysoform brachten.

Die Katheterstücke wurden dann nach ihrer Herausnahme aus der Rohlysoformlösung in sterilem Wasser ausgewaschen und hernach in Bouillon gegeben.



tische Rohlysoform weniger desinfizierend wirkt als das gewöhnliche Lysoform. Dies konnten wir jedoch nicht konstatieren.

Gewiß wäre es interessant, die Bedeutung der ätherischen Oele in Seifen des weiteren zu verfolgen; einstweilen jedoch kann es sicher angenommen werden, daß die bakterizide Kraft des Lysoforms und Rohlysoforms nicht durch Riechstoffe, sondern durch den Formaldehydgehalt bedingt ist.

Kurz zusammengefaßt also, zeigt das Rohlysoform bezüglich seiner Eigenschaften gegenüber dem ursprünglichen Lysoform keinen wesentlichen Unterschied, demzufolge es im stande ist — seinen höchst niederen, billigen<sup>1)</sup> Preis auch noch mit in Betracht gezogen — die gewöhnlichen, ätzenden oder übelriechenden Desinfektionsmittel in der Großdesinfektion vorteilhaft zu ersetzen.

*Nachdruck verboten.*

## Versuche zur Züchtung der Choleravibrionen.

[Aus dem kgl. hygien. Institut der Universität Halle a. S. (Dir.: Geh. Medizinalrat Prof. Dr. C. Fraenkel).]

Von **Karl Besser**, Halle a. S.

In einigen Arbeiten im Klin. Jahrbuch berichtet Hirschbruch und zusammen mit Schwer im Centralblatt für Bakteriologie über Versuche, die sie zwecks schnellerer und sicherer bakterieller Diagnose der Cholera asiatica mit einem Spezialagar angestellt haben.

Eine Nachprüfung desselben, zu dem die beiden Autoren auffordern, hat Herr Geheimrat Fraenkel mir liebenswürdigerweise übertragen.

Untersuchungen, die das Wachstum von Bakterien überhaupt auf dem von v. Drigalski und Conradi für die Diagnose des Typhus empfohlenen Agar betrafen, hatten Hirschbruch und Schwer zu dem Ergebnis gebracht, daß die Choleravibrionen auf demselben auch in intensiv blauer Farbe wüchsen. Weitere Versuche führten sie schließlich zu einem von ihnen Cholaspezialagar benannten Nährboden, der sich nur in wenigen Punkten von dem von v. Drigalski und Conradi'schen Agar unterscheidet.

Um mich zu orientieren, prüfte auch ich zunächst das Wachstum der Choleravibrionen auf dem Typhusagar.

Die Kulturen, die mir bei meinen Untersuchungen zur Verfügung standen, waren die älteren Stämme der Sammlung des Institutes, als Cholera 36, Chol. Klein, Chol. El Tor, Chol. Ficker, Chol. Freiburg und Chol. Duisburg, ferner ein jüngerer Stamm Chol. Berlin benannt und außerdem die Stämme 64, 70, 121, 122, 139, 181, 188, 218\*, 331 der diesjährigen Epidemie, die Herr Geheimrat Fraenkel so gütig war, mir aus Berlin kommen zu lassen.

Zum Ausstrich benutzte ich Peptonwasserkulturen und 18-stündige Agarkulturen, die aus 6-stündigen Peptonwasserkulturen hergestellt waren.

Nach 14-stündigem Aufenthalt im Brutraum bei 37° war auf den verschiedenen Platten, die mit Chol. 36, Klein, Ficker,

1) 1 Kilogramm kommt auf 1 Krone 20 Heller zu stehen, so daß z. B. ein Kilo einer 3-proz. Lösung ungefähr 4 Heller, einer 5-proz. 6 Heller kostet.

Freiburg beschickt waren, ferner *Vibrio Metschnikoff*, *Vibrio Finkler-Prior*, nur Kolonien zu sehen, die etwa Sandkorngröße hatten, dagegen einen Durchmesser von 1 mm, wie es Hirschbruch und Schwer gefunden hatten, nie erreichten. Auch die Platten, die mit Material von den anderen Stämmen geimpft waren, waren nicht viel anders. Ueberall war bei der ersten Besichtigung nach 10 Stunden — der Vorschrift der beiden Autoren entsprechend — nur eben eine Andeutung von Wachstum und zuweilen ein ganz feiner Rasen bei dichter Aussaat zu sehen, so daß ich schon annehmen zu müssen glaubte, daß eine praktische Verwertung nach 10-stündigem Aufenthalt bei 37° nicht sonderlich fruchtbringend sein könnte. Dabei meinte ich allerdings bei einem Nährboden, der durch Farbzusatz, auch bei der Verwendung von höchstens 10–12 ccm für eine Platte, gegenüber dem gewöhnlichen Bouillonagar an Durchsichtigkeit eingebüßt hat, der außerdem die Differentialdiagnose zwischen verschiedenen Kolonien durch eine Farbreaktion erleichtern soll, eine Größe von etwa 1 mm Durchmesser für die Kolonien für praktische Zwecke verlangen zu müssen. v. Drigalski und Conradi stellen auch an ihren Nährboden nicht das Verlangen, daß die darauf gewachsenen Typhuskolonien schon nach 10 Stunden der praktischen Diagnose dienstbar gemacht werden, sondern erst nach 14–16 Stunden. Am deutlichsten sei der Unterschied nach 20–24 Stunden.

Bei der zweiten Besichtigung nach 20 Stunden zeigten dann insbesondere die neuen Stämme Kolonien von 1 mm Durchmesser, eine bei Aufsicht und Durchsicht schön himmelblaue, oft auch dunkler blaue Farbe. Von der Farbe des Nährbodens war ein besonders deutlicher Unterschied nicht zu sehen. Namentlich vermißte ich eine intensivere Blaufärbung des Nährbodens in der nächsten Umgebung der Kolonie, die durch die Alkalibildung des Choleravibrio hervorgerufen sein sollte.

Was das weitere Wachstum der Choleravibrionen auf dem Lackmuskristallviolettmilchzuckeragar betrifft, so fanden sich nach 48 Stunden teils tiefblaue Kolonien, teils solche mit einem gräulichen Schimmer, der etwas ins Grüne hinüberspielt. Später habe ich auf der von Hirschbruch und Schwer angegebenen Modifikation des Agars stets gefunden, daß schon am 2. Tage die Cholerakulturplatte einen grünlichen Farbenton annahm, der in kurzer Zeit sehr intensiv wurde. Eine so tiefblaue Farbe, die bei Aufsicht schwarz erschienen wäre, habe ich nur einmal beobachtet.

Dieselben Resultate lieferten mir die Versuche, die mit dem oben erwähnten Choleraspezialagar nach Hirschbruch und Schwer angestellt wurden.

Die Vorschrift, die für denselben in den Hauptpunkten gegeben worden ist, ist die folgende:

20 g Stangenagar, 10 g Liebig's Fleischextrakt, 10 g Peptonum siccum (Witte) und 5 g Kochsalz werden mit 1 Liter Leitungswasser in einem Kolben 1½ Stunden lang gekocht. Nachdem der Inhalt bis auf 45–50° abgekühlt ist, wird das zu Schnee geschlagene Eiweiß eines Eies hinzugegeben. Dann kocht man kurze Zeit, filtriert und sterilisiert. 15 g Milchzucker gibt man pro Liter zum heißen Agar, schüttelt tüchtig und kocht ¼ Stunde lang. Mit einer 10-proz. sterilisierten Lösung kristallisierter Soda wird alsdann der Nährboden auf den Lackmusneutralpunkt gebracht und dann noch 9 ccm dieser Lösung pro

Liter hinzugeben. Es erfolgt nunmehr der Zusatz von 130 ccm sterilisierter Lackmuslösung und von 10 ccm einer ebenfalls sterilisierten 0,1-proz. Lösung von Kristallviolett (B) Höchst.

Im wesentlichen unterscheidet sich also dieser Nährboden von dem v. Drigalski-Conradischen durch den Mangel an Nutrose, die auf das Wachstum der Choleravibrionen nachteilig wirken soll, und durch den geringeren, 2-proz. Gehalt an Agar.

Diese letztere Vorschrift hat folgenden Grund: v. Drigalski und Conradi haben empfohlen, den Gehalt an Agar bei ihrem Nährboden gegenüber dem gewöhnlichen Bouillonagar um  $1\frac{1}{2}$  Proz. zu erhöhen, um einer allzu intensiven Diffusion der vom *Bact. coli* gebildeten Säure in die Umgebung ein Hindernis zu bieten. Dadurch wird erreicht, daß die wenig Alkali bildenden Typhusbacillen auch bei schwach ausgeprägter Eigenfarbe sich doch deutlich von den roten Colikolonien als blaue Kolonien abheben konnten. Ganz entsprechend war für die auf dem Milchzuckeragar stärker Alkali produzierenden Choleravibrionen die Vorschrift, den Agargehalt auf 2 Proz. zu lassen. Dadurch wurde die Diffusion der durch Colikolonien gebildeten Säure erleichtert und die durch eine reichlichere Alkalibildung frühzeitig gebläuten Cholera-kolonien konnten sich durch den so hervorgerufenen starken Farbkontrast nur deutlicher abheben.

Die zum Nährboden benutzte Bouillon war zum Teil auch von Pferdefleisch hergestellt. Ein Unterschied zwischen dieser und der Fleisch-extraktbouillon machte sich zunächst nicht bemerkbar.

Bezüglich des Eiweißes hielt ich es für erlaubt, mich an die Gewohnheit des Institutes zu halten und auf 1 Liter Nährboden 3 g getrockneten Eiweißes zu verwenden, das zunächst im Wasser gelöst und dann zum abgekühlten Agar gegeben wurde.

Auch auf diesem Nährboden war das Wachstum nach 10 Stunden ein derartig geringes, daß weder eine makroskopische Diagnose, noch eine praktische Verwertbarkeit der Kolonien möglich erschien. Wohl aber waren die Kolonien nach 20 Stunden meist reichlich 1 mm im Durchmesser groß und intensiv blau gefärbt. Die Resultate, die ich dann bei Versuchen mit Gemischen von *Coli* und *Cholera* erhielt, waren den eben beschriebenen entsprechend.

Während nach 10 Stunden das Wachstum meist nur angedeutet war, nach 14 Stunden neben 1 mm im Durchmesser großen Colikolonien, die den Nährboden mehr oder weniger deutlich gerötet hatten, beziehungsweise selbst rot aussahen, sich andere Kolonien schon ziemlich deutlich abhoben, die aber noch keine Eigenfarbe erkennen ließen und nur sehr häufig Verwechselungen veranlaßten, konnte ich nach 20 bis 22 Stunden die ausgezeichnetsten Unterscheidungsmerkmale feststellen. So z. B. gibt folgendes Protokoll über eine Platte, die mit *Coli* und *Cholera* Klein besickt war, 22 Stunden bei 37° gestanden hat, an: abgesehen von der Randzone, die infolge der dickeren Nährbodenschicht noch rötlich violett erscheint, sieht die Platte vorwiegend blau aus. Zwischen sehr blassen nur schwach rötlichen Kolonien, die auch in der Randzone nicht anders gefärbt erscheinen, finden sich zahlreiche bis zu 1 mm im Durchmesser messende blaue Kolonien zerstreut, die in der Randzone violett gefärbt sind. Deutlicher Unter-

schied von der als Kontrolle angelegten Coli- und Typhusplatte ist vorhanden, auf der noch deutliche rote Kolonien mit roter Umgebung zu sehen sind. Bei Durchsicht läßt der Nährboden, abgesehen von der Randzone, keine Eigenfarbe erkennen, während die bei Aufsicht blauen Kolonien auch bei Durchsicht blau erscheinen. Sie sind also selbständig blau. Auf der Platte Coli und Cholera 74 tritt besonders deutlich hervor, daß der Nährboden gerade dort, wo Cholera kolonien stehen, eine bei Aufsicht und Durchsicht gleich auffallende blaue Farbe angenommen hat.

War es mir also auch nicht möglich, nach 10 Stunden brauchbare Resultate zu bekommen, so erschienen doch die Eigentümlichkeiten des Wachstums nach weiteren 10 Stunden so ausgeprägt, daß es wohl wert erschien festzustellen, in welcher kürzesten Zeit dieselben von den Kolonien erreicht würden. Gleichzeitig versuchte ich, ob ich den Nährboden nicht dadurch tüchtiger machen könnte, daß ich ihn mit Rindfleischbouillon herstellte, ein Versuch, der, wie ich später las, nur der Vorschrift v. Drigalskis und Conradis entspricht. Es wäre wohl zunächst näher liegend gewesen, den Kristallviolettzusatz zu verringern, davon sah ich ab, um nicht durch eine noch höhere Verdünnung des Kristallviolett dem Wachstum anderer verunreinigender Bakterien Wege zu bahnen.

Die Herstellung des Rindfleischagars geschah in der folgenden Weise:  $1\frac{1}{2}$  Pfund Rindfleisch wurden mit einem Liter Wasser übergossen und 24 Stunden ausgelaugt, dann koliert. Der Rückstand mit  $\frac{1}{2}$  l Wasser noch einmal etwa  $\frac{1}{2}$  Stunde ausgekocht, dann wieder koliert. Beide Filtrate wurden alsdann  $1\frac{1}{2}$  Stunden unter Zusatz von Pepton und Kochsalz gekocht, filtriert und in der üblichen Weise weiter behandelt.

Die Resultate, die ich auf dem so hergestellten Nährboden erhielt, waren von den früheren, wenn auch nur wenig, so doch in etwas unterschieden, nämlich in den Größenverhältnissen.

Gerade die Platten, die mit Coli und Cholera und zwar den Stämmen Berlin, 121, 139, 181, 218 beschickt waren, zeichneten sich dadurch aus, daß auf ihnen zwei morphologisch verschiedene Kolonien nach 10 Stunden gewachsen waren, unter denen das geübte Auge leicht die kleineren, punkt- bis kleinstecknadelkopfgroßen, stark glänzenden für Cholera kolonien ansprach, während die anderen für Coli zu haltenden Kolonien größer, sehr flach, schlecht begrenzt und matt erschienen.

Durch diese verhältnismäßig leicht zu stellende Differentialdiagnose unterschieden sich die Choleraplatten besonders auch von den anderen Platten, die mit Coli und Typhus und Coli und Kruse beschickt waren.

Dagegen war von einer Farbveränderung selbst auf der Coli-reinkulturplatte noch keine Rede nach 10 Stunden. Nach 20 Stunden war auch hier das oben mehrfach erwähnte Bild der zwei Farben vorhanden.

Es war also wohl nicht zu verkennen, daß nach 10 Stunden für den Geübten eine Differentialdiagnose möglich war, nur nicht auf Grund des typischen Verhaltens der verschiedenen Kolonien auf dem Lackmusmilchzucker-nährboden, das doch denselben zu einem Cholera-spezial-agar stempeln soll.

Ich gehe nunmehr über zur Beschreibung von Versuchen, die ich mit Stuhlaufschwemmungen machte, die mit Cholera-vibrionen vermischt worden waren.



Um eine nicht zu dichte Aussaat zu erhalten, wurde eine starke Oese Stuhl in 1 ccm 0,85-proz. Kochsalzlösung verrieben, der außerdem eine Oese Choleraaufschwemmung beigemischt wurde. Diese letztere enthielt zumeist auf 1 ccm 0,85-proz. Kochsalzlösung  $\frac{1}{2}$  Oese einer 18-stündigen Agarkultur.

Da es mir nunmehr darauf ankam, den Eintritt der deutlichen Farb-reaktion festzustellen, so verzichtete ich auf die Besichtigung nach 10 Stunden, eine Zeit, zu der das Wachstum differentialdiagnostische Merkmale noch nicht hervorgebracht hatte und die außerdem recht ungünstig lag, da doch in den folgenden Stunden eine wiederholte Untersuchung nötig war, und beschränkte mich in den meisten Fällen darauf, die Platten nach 13 resp. 15 Stunden anzusehen.

Diese Beobachtungen haben ergeben, daß nach 14 Stunden die Colikolonien stets rot erschienen und den Nährboden in ihrer Umgebung ebenfalls mehr oder weniger gerötet hatten, so daß die Cholerakolonien, die zu dieser Zeit meist eine Größe von 1 mm im Durchmesser erreicht hatten, in ihrer schönen himmelblauen, zuweilen auch dunkler blauen Farbe bei Aufsicht wie bei Durchsicht stets sehr deutlich zu erkennen waren und die Differentialdiagnose in der Tat keine besonderen Schwierigkeiten bereite. Ich möchte jedoch bemerken, daß die von den Colikolonien gebildete Säure zu dieser Zeit meist noch nicht soweit in die Umgebung diffundiert war, daß sie an die nächsten Cholerakolonien heranreichte. Der Gegensatz, den die blauen Kolonien auf rotem Grunde bieten, fehlte also noch. Doch waren die verschiedenen Kolonien an ihren bezüglichen Unterschieden durchaus zu erkennen.

In späteren Stunden treten dann allerdings, vorausgesetzt, daß die Choleraaussaat gegenüber der Coliaussaat nicht allzu reichlich geworden war, auf dem diffus rosa gefärbten Nährboden die blauvioletten Cholerakolonien bei Tageslicht wie bei Auerlicht prächtig in Erscheinung.

Umgekehrt trat auch ein sehr typisches Bild auf, wenn einmal die Coliaussaat gegenüber der Choleraaussaat zu gering bemessen war. Die Säurebildung trat dann als Rotfärbung überhaupt nicht hervor, die Platte war besät mit typischen intensiv blauen Kolonien, zwischen denen sich einige andere Kolonien, die nach der Kontrolle offenbar nur Colikolonien sein konnten, wie weiße Flecke ausnahmen.

In solcher Farbenkonstellation hielten sich die Platten meist 48 Stunden. War die Choleraaussaat sehr reichlich, so trat häufig schon am 2. Tage leichte Grünfärbung ein. Auf einzelnen Platten war diese Umfärbung ebenfalls an gewissen Stellen zu beobachten, wenn eine solche beim Ausstreichen besonders reichlich mit Choleravibrien bedacht worden war. War die Choleraaussaat geringer, so war oft noch nach mehreren Tagen das typische Bild des geröteten Nährbodens mit den blauen Kolonien zu sehen. Die Colikolonien selbst blaßten meist schon frühzeitig ab, etwa am 2. Tage. Sie sahen dann trübe, milchig, mattrosa aus, um schließlich auf einem wieder blau gewordenen Nährboden selber auch eine milchige, trübe, blaue Farbe anzunehmen.

Weiterhin wurde das Bild dann noch dadurch kompliziert, daß die Choleravibrien verschieden aussehende Kolonien bildeten, analog ihrem Verhalten auf gewöhnlichem Agar. Nie aber habe ich ein derartiges Verhalten in den ersten 20 Stunden bei 37° gesehen, so daß es also praktisch keine Bedeutung hat. Nur einmal sah ich auch, aber

erst nach etwa 5 Tagen, die Cholerakolonie derartig dunkelblau gefärbt, daß sie bei Aufsicht auf dunkler Unterlage schwarz aussah. Auch vermißte ich die grünlich blaue Farbe der wieder alkalisch gewordenen Colikolonie, wie es Hirschbruch angibt. Grüne Farbe habe ich am frühesten bei Cholerareinkulturen gesehen.

Diese namentlich bezüglich der ersten Besichtigung nach 14 Stunden zufriedenstellenden Resultate erzielte ich hauptsächlich mit den neuen Stämmen der diesjährigen Epidemie. Von den Stämmen der Sammlung versagten Cholera El Tor, Freiburg, Ficker fast vollkommen, durch ihr ungenügendes Wachstum, ein Umstand, der wohl darauf zurückzuführen ist, daß diese Stämme in der Sammlung des Institutes doch schon jahrelang von Agar auf Agar fortgezüchtet wurden.

Wir sahen also, daß die Kolonien der Choleravibrionen auf dem von Hirschbruch und Schwer empfohlenen Spezialagar mit gewissen charakteristischen Eigenschaften wachsen, an denen man sie stets vom *Bact. coli* wieder unterscheiden wird. Es bleibt noch festzustellen, wie es mit der Unterscheidung der echten Choleravibrionen von den choleraähnlichen und anderen pathogenen Darmbakterien steht.

Bezüglich der choleraähnlichen Vibrionen ist zu sagen, wie auch Hirschbruch und Schwer angeben, daß sie sich in nichts von den Kulturen der echten Choleravibrionen unterscheiden. Diesen Mangel dürfte man heute nach Einführung der Agglutination nicht mehr so schwer empfinden. Es darf eben heute die bakteriologische Diagnose auf Cholera asiatica nicht gestellt werden, ohne daß die Agglutinationsprobe gemacht worden ist. Nicht viel anders steht es mit der Frage, wie sich der *Bac. typhi*, Paratyphi, Kruse gegenüber dem Choleravibrio auf dem Agar verhalten. Es ist zunächst Hirschbruch und Schwer wohl recht zu geben, daß eine bakteriologische Differentialdiagnose zwischen Typhus, Dysenterie oder Cholera in praxi wohl nur sehr selten vorkommt. Sollte es aber wirklich nicht möglich gewesen sein, Cholera klinisch auszuschließen, so trifft doch hier wohl dasselbe zu, was oben bei der Differentialdiagnose zwischen echten Choleravibrionen und choleraähnlichen gesagt worden ist. Auch bei der Typhusdiagnose wird sich heute niemand im fraglichen Falle mit dem Kulturverfahren begnügen. Einige Versuche, die das Wachstum anderer im Darm vorkommender Bakterien betreffen, mögen immerhin erwähnt sein. Von dem Stamm *Faecalis alcaligenes*, der mir zu Gebote stand, erzielte ich nur so feine zarte Kolonien, daß auch nach 22 Stunden eine Verwechselung mit Cholerakolonien ausgeschlossen schien. Desgleichen der *Bac. Kruse*, der in matten tautropfenähnlichen Kolonien wuchs. Nur in Gruppen stehende und konfluierende Kolonien zeigten einen matten, bläulich weißen Schimmer, die einzelnen erschienen farblos.

Kaum von Cholerakolonien zu unterscheiden sind, wie auch Hirschbruch und Schwer angeben, die Typhus- und Paratyphusbacillen. Ist auch die blaue Farbe derselben meist nicht so intensiv blau wie bei den Cholerakolonien, mehr milchig getrübt, so sind sie doch so verschieden, die Uebergänge so mannigfaltig, daß eine makroskopische Differentialdiagnose nicht möglich ist. Etwas besser waren die Platten zu unterscheiden, wenn sich auf ihnen Mischungen von *Coli*, Typhus, Paratyphus, Kruse bezw. Cholera, wie oben schon einmal kurz erwähnt wurde, befanden, desgleichen wenn es sich um Stuhlaufschwemmungen handelte.

Bei einem Versuch mit Coli und Paratyphus war es auffallend, daß, obwohl das Zahlenverhältnis der ausgesäten Coli- und Paratyphusbacillen durchaus nicht erheblich verschieden war von Coli und Cholera, doch auf der Paratyphusplatte die Colikolonien durch eine viel deutlichere Rotfärbung der Kolonien, wie besonders des Nährbodens, in den Vordergrund traten. Die als Paratyphus in Frage kommenden Kolonien waren, obwohl  $\frac{1}{2}$  bis 1 mm etwa groß, bei Aufsicht völlig farblos, taupfropfenähnlich, während die Cholerakolonien deutlich ihre blaue Farbe erkennen ließen. Ebenso zeigten die Krusekolonien nach 14 Stunden nur einen blassen, bläulichen Schimmer und waren mit Cholerakolonien kaum zu verwechseln, bei Auerlicht waren sie überhaupt nicht sichtbar. Eine deutliche blaue Eigenfarbe hatten sie erst nach 60 Stunden angenommen. Bezüglich eines Stuhltyphusgemisches kann ich nur sagen, daß nach 15 Stunden die Typhuskolonien bei Durchsicht blaß, beinahe milchig blau, erschienen.

Da es sich hier um einen der Versuche handelt, die ich gleichzeitig mit Typhus, einem echten Choleravibriostamm und einem choleraähnlichen anlegte, so mag er in kurzer Uebersicht folgen:

Farbe	Cholera	Typhus	Vibr. Massaua
des Nährbodens	blau	violett	violett
der Colikolonie	weiß	rosa	rosa
der Umgebung der Colikolonie	Schimmer von rosa	deutlich rosa	rosa
der bezügl. Kolonie	satt blau	blaß, etwa milchig blau	blau

Leider ist dieses Resultat insofern nicht als Norm hinzustellen, als sowohl die Choleraaussaat, wie die Typhusaussaat sehr reichlich war und die Coliaussaat bei weitem übertraf.

Nicht unerwähnt möchte ich einen Stuhlbefund lassen, weil er bezüglich der darin gefundenen Bakterien gegenüber den Choleravibrien von Interesse ist. Bei einigen Versuchen fiel es auf, daß bereits auf der Kontrolle neben typischen Colikolonien gleich große blaue Kolonien gewachsen waren, die sogar um sich herum eine blaue Zone erzeugten. Trotzdem waren diese nach 14–15 Stunden von den Cholerakolonien mit Leichtigkeit zu unterscheiden, auch dann, als es sich einmal fast ausschließlich um derartige Kolonien handelte. Diese waren der Cholerakolonie gegenüber dadurch gekennzeichnet, daß sie sie an Größe weit übertrafen, dabei viel flacher waren und eine viel mattere, mehr milchige blaßblaue Farbe zeigten. Die Cholerakolonien waren stets, soweit es sich um die richtige Dicke des Nährbodens handelte, an ihren Charakteristika zu erkennen: sie zeigten die weit dunklere Farbe, waren klein, glänzend und saßen wie ein Stecknadelkopf der Oberfläche auf.

Ich habe nunmehr einige praktische Fragen zu erledigen.

Zunächst wie soll das Ausgangsmaterial verwendet werden? Die oben angegebene Methode 1 Oese Stuhl auf 1 ccm 0,85-proz. Kochsalzlösung zu geben und von dieser Aufschwemmung aus Platten auszustreichen, dürfte nicht ausreichend sein. Ich hatte mir deshalb für mehrere Versuche einen dicken Stuhlbrei hergestellt und dazu eine Stuhlmenge benutzt, die etwa die Größe einer Kirsche hatte. Diesen Brei prüfte ich auf seine Alkaleszenz, machte ihn gegebenen Falls alkalisch und verrieb in ihm 1 Oese einer 18–24-stündigen Kultur.

Von diesem künstlichen Cholerastuhl brachte ich alsdann 1 Oese

auf eine Platte, strich das Material mit dem von v. Drigalski angegebenen Glasspatel aus und verwandte den eben benutzten Spatel noch für eine 2. Platte und weiter in derselben Weise für eine 3. Platte. Mit dieser Methode erhielt ich oft schon auf der 2., besonders aber auf der 3. Platte sehr schöne übersichtliche Bilder. Ebenso gut erschien mir das Verfahren nach v. Drigalski und Conradi, die eine kleinere Menge Stuhl mit steigenden Mengen 0,85-proz. Kochsalzlösung versetzten und von diesen Aufschwemmungen je 1 Oese auf einer Platte ausstrichen. Außerdem streiche man in praxi von den Peptonwasserkulturen, die obligatorisch bei jedem zur Untersuchung gelangenden Falle angelegt werden müssen, nach 6 Stunden mehrere Platten aus. Man erhält alsdann nach 12—14 Stunden, wie ich erprobte, solche Kulturen, daß mit ihnen die makroskopische, quantitative Agglutination angestellt werden kann.

Was das zum Ausstreichen zu benutzende Instrument anlangt, so erwies sich freilich die Platinöse nicht als das geeignetste; dagegen habe ich den von v. Drigalski und Conradi angegebenen Glasspatel so schätzen gelernt, daß ich von demselben während meiner sämtlichen Versuche nicht abgewichen bin.

Bezüglich der Dicke des Nährbodens halte auch ich für die gewöhnliche Größe der Petrischen Schalen von 10 cm im Durchmesser 10 bis 12 ccm für die geeignetste Menge. Eine geringere Menge, etwa 8 ccm, halte ich nicht für ausreichend. Die Nährbodenschicht ist alsdann derartig dünn, daß eine Eigenfarbe besonders bei Durchsicht gar nicht zu erkennen ist. Daß dabei eine Farbenveränderung früher zu konstatieren gewesen wäre, habe ich bei meinen Besichtigungen, die bei diesen Spezialversuchen von der 9. Stunde an stündlich erfolgten, nicht bemerkt.

Eine Menge von 15 ccm mochte noch angehen, bei 18 oder gar 20 ccm war die Farbe des Nährbodens dann derartig dunkel, daß selbst in der von mir verlangten Zeit von 14 Stunden eine Rotfärbung nur sehr schwer zu sehen war und die blauen Cholerakolonien ebenfalls nur sehr undeutlich in Erscheinung traten. Voraussetzung ist bei Verwendung von nur 10—12 ccm Nährboden eine gleichmäßige Dicke der fest gewordenen Platte, mit anderen Worten ein vollkommen ebener Boden der Petrischen Schale. Es erscheint mir durchaus nicht unwichtig, zumal bei einem gefärbten Nährboden gerade auf diese Eigenschaft hin die zur Benutzung gelangenden Schalen genau auszuwählen, um nicht auf ein und derselben Platte infolge der verschiedenen Dicke der Nährbodenschicht einen verschiedenen Intensitätsgrad zu haben.

Außerdem wird das Ausstreichen des Materials sehr erschwert, wenn die Nährbodenschicht an einer Stelle zu dünn ausgefallen ist, ein Einreißen ist dann kaum zu vermeiden, selbst auch beim Ausstreichen mit dem Glasspatel.

Wie vordem erwähnt worden ist, unterscheiden sich auf dem Laktosmilchzuckeragar die Kolonien der echten Choleravibrionen durch nichts von den choleraähnlichen Vibrionen. Das Kulturverfahren bedarf also der Ergänzung durch die Agglutination.

Da aber der Nährboden einen Zusatz von Kristallviolett erhalten hat, um das Wachstum zahlreicher anderer im menschlichen Darm vorkommender Bakterien zu hemmen, so war zu befürchten, daß die Choleravibrionen durch diesen Nährbodenzusatz doch irgendwie gelitten haben konnten, etwa derartig, daß ihre Agglutinabilität ungünstig beeinflusst sein könnte. Ich habe daher mit einigen der neuen Stämme vergleichende

Untersuchungen darüber angestellt, ob ein diesbezüglicher Unterschied zwischen dem Bouillonagar und dem Spezialagar besteht. Ich erhielt dabei folgende Resultate:

Cholera	Spezialagar	Gewöhnlicher Agar
70	nach 2 Stdn. 37° 1:3200 " 6 " 37° 1:6400	nach 2 Stdn. 37° 1:6400
121	" 1 " 37° 1:5000 " 24 " 37° 1:6400	" 1 " 37° 1:5000 " 24 " 37° 1:6400
139	spont. 1:1600 nach 1½ Stdn. 37° 1:3200 " 24 " 37° 1:6400	spont. 1:3200 nach 1½ Stdn. 37° 1:6400
64	" 1 " 37° 1:3200 " 2 " 37° 1:3200 " 24 " 37° 1:6400	" 1 " 37° 1:3200 " 2 " 37° 1:3200 " 24 " 37° 1:6400
188	" 1½ " 37° 1:3200 " 24 " 37° 1:6400	" 1½ " 37° 1:3200 " 24 " 37° 1:6400

Wie aus der Tabelle hervorgeht, ist bei einem Serum vom Kaninchen mit dem Titer 1:6400 nur in den höhergradigen Verdünnungen ein zeitlicher Unterschied in dem Eintreten der Agglutination zu sehen. Da nun für den Ernstfall das Serum dem Institut für Infektionskrankheiten in Berlin zu entnehmen ist, das ein Serum vom Titer 1:10000 liefert und mit den Verdünnungen nur bis 1:2000 anzustellen sind, so kommt der geringe von mir gefundene Unterschied zwischen den beiden Nährböden für die praktische Diagnose wohl nicht in Betracht. Die orientierende Agglutinationsprobe im hängenden Tropfen habe ich meist von der Stuhlmischplatte aus angelegt und dabei stets positive Resultate erzielt. Bei dieser Probe ist vor allem Wert darauf zu legen, so wenig als nur möglich Material zu verwenden. Mit sehr feiner Nadel berühre man eben die Kolonie. Geht man nicht in dieser Weise vorsichtig zu Werke, so treten unweigerlich nicht zerriebene Klümpchen im Tropfen auf, die ein klares Bild unmöglich machen. In den meisten Fällen war es dann nötig, die Tropfen auf 1/2 Stunde in den Brutschrank (37°) zu stellen. Die angewandte Verdünnung war 1:500.

Uebrigens zeichneten sich die choleraähnlichen Vibrionen besonders dadurch aus, daß sie schwer zu verreiben waren, oft war es gar nicht möglich.

Ich bin am Schluß meiner Untersuchungen. Durch sie glaube ich dargelegt zu haben, daß der von Hirschbruch und Schwer empfohlene Spezialagar, den ich jedoch ausschließlich mit Rindfleischbouillon hergestellt wissen will, eine Bereicherung unseres Materials bedeutet, das im Dienste der Choleradiagnose steht.

Wenn die Vibrionenkolonien auch nicht nach 10 Stunden an ihren Charakteristika zu erkennen sind, so ist dieses nach 14 Stunden mir stets möglich gewesen und zwar mit einer Leichtigkeit und Klarheit, wie es auf der gewöhnlichen Agarplatte für ausgeschlossen gelten kann. Von dieser schreibt freilich Koch, daß sie im stande sei, nach 10 Stunden (nach Kollé in 8—12 Stunden) isolierte zur Weiterbehandlung brauchbare Kolonien zu liefern. Wenn der Spezialagar das erst nach 14 Stunden vermag, so wird diese geringe Zeitdifferenz durch seine Vorzüge aufgewogen, so daß ich mich ebenfalls der Hoffnung hingeebe, daß das Verfahren auch im Ernstfalle der Kritik stand halten wird<sup>1)</sup>.

1) Anmerkung bei der Korrektur: Auch Berger-Hamburg teilt neuerdings mit (Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 13), daß er gelegentlich der bakterio-

**Literatur.**

- Buchner, Arch. f. Hyg. Bd. III. 1885. p. 361.  
 Behring, Zeitschr. f. Hyg. Bd. VII. 1889. p. 171.  
 Flügge, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XIV. 1893. p. 193.  
 Koch, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XIV. 1893. p. 319.  
 Gruber, Arch. f. Hyg. Bd. XX. 1894. p. 123.  
 Friedrich, P., Arb. a. d. k. Gesundheitsamt. Bd. VIII. 1893. p. 465.  
 Petruschky, Centralbl. f. Bakt. Bd. VII. 1890. p. 53.  
 Smith, Centralbl. f. Bakt. Bd. VIII. 1890. p. 390.  
 —, Centralbl. f. Bakt. Bd. XVIII. 1890. p. 1.  
 Gosio, Archiv f. Hyg. Bd. XXII. 1895. p. 1.  
 v. Drigalski-Conradi, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXIX. 1902. p. 283.  
 Kolle, Klin. Jahrb. Bd. XI. 1903. Heft 3.  
 Hirschbruch und Schwer, Klin. Jahrb. Bd. XII. 1904. p. 249.  
 —, Hyg. Rundsch. 1903. p. 864.  
 —, Centralbl. Bd. XXXIV. p. 585.  
 —, Centralbl. Bd. XXXII. p. 144.

---

*Nachdruck verboten.*

## Ueber den Nachweis von Indol und die Bildung von Indol vortäuschenden Stoffen in Bakterienkulturen.

[Aus dem pathologischen Laboratorium (Prof. Ruitinga) der Universität von Amsterdam.]

Von **F. A. Steensma**, Assistenten.

Vor einiger Zeit hat Dr. J. J. v. Loghem einen Fall von Pneumaturie beschrieben<sup>1)</sup>. Es gelang ihm, aus dem Harn des Patienten einen Mikroorganismus, den *Proteus vulgaris* (Hauser), zu isolieren. Es schien, daß dieser *Proteus* Indol bildete, eine Eigenschaft, die man auch in der Literatur von *Proteus vulgaris* verzeichnet findet. Die 2-proz. Peptonwasserkulturen gaben nämlich mit Schwefelsäure und Kaliumnitrit eine rote Farbe. Ich schlug damals meinem Kollegen vor, zu versuchen, ob eine Methode, die von mir<sup>2)</sup> zur Isolierung einiger Farbstoffe im Harn ausgearbeitet ist, auch für den Indolnachweis benutzt werden könnte. Die Kulturflüssigkeit wurde dazu mit Bleizucker versetzt; das Filtrat mit Essigsäure versetzt und mit Aether aceticus im Scheidetrichter ausgeschüttelt. Das Aether aceticus-Extrakt wurde mit Kalilauge ausgeschüttelt, und in der Kalilauge die Indolreaktion angesetzt (mit Salzsäure und Nitrit). Auf diese Weise bekam man mit der Peptonwasserkultur ein sehr schönes Resultat. Ich zweifelte aber, ob auf diese Weise wohl Indol nachgewiesen werden könnte, und bald stellte sich heraus, daß dies nicht der Fall war und zwar aus folgenden Gründen:

1) Reines Indol geht wohl aus saurer Lösung in Aether aceticus über, kann aber daran durch Alkali nicht entzogen werden.

2) Das Spektrum des roten Farbstoffs und dasjenige des Nitrosoindols sind verschieden. Der rote Farbstoff gibt einen Streifen im

logischen Untersuchungen der im vergangenen Jahre in das Eppendorfer Krankenhaus eingelieferten Cholerafälle den Nährboden nach v. Drigalski-Conradi mit ausgezeichnetem Erfolge verwendet habe.

1) Diese Zeitschrift. Bd. XXXVIII. p. 425.

2) Ned. Tijdschrift voor Geneesk. 1904. p. 425.

Grünen, während das Nitrosoindol keine scharfe Absorptionsstreifen zeigt.

3) Der Nachweis des roten Farbstoffes mittelst der beschriebenen Methode gelang nicht in einer 2-proz. Peptonwasserkultur von *Bact. coli*, und doch gab diese Kultur sehr schön die Reaktionen auf Indol mit Nitrit und Säure und mit Nitroprussidnatrium, Kalilauge und Eisessig.

Es waren jetzt zwei Möglichkeiten vorhanden:

1) Der beschriebene *Proteus vulgaris* bildet Indol und daneben noch einen zweiten Stoff, der auch mit Nitrit und Säure eine rote Farbe gibt.

2) Der beschriebene *Proteus vulgaris* bildet kein Indol, sondern einen anderen Stoff, der mittelst der von mir beschriebenen Methode nachgewiesen werden kann.

Es war leicht zu entscheiden, welcher Fall hier vorlag. Ich konnte folgende Eigenschaften der Peptonwasserkulturen feststellen:

1) Mit Natriumnitrit (einige Tropfen einer  $\frac{1}{2}$ -proz. Lösung auf 10 ccm Kulturflüssigkeit) und Salzsäure entsteht eine rote Farbe. Die rote Flüssigkeit zeigt spektroskopisch einen deutlichen Streifen im Grünen.

2) Mit Nitroprussidnatrium, Kalilauge und Eisessig tritt keine blaue Farbe auf.

3) Im Destillat kann kein Indol nachgewiesen werden; die Nitrosoindolreaktion und die Reaktion mit Nitroprussidnatrium fallen beide negativ aus. Der Rückstand dagegen gibt mit Nitrit und Säure eine rote Farbe, indem die Nitroprussidnatriumreaktion auf Indol negativ ist.

4) Mischt man die Peptonwasserkultur mit einer Kultur von *Bact. coli*, dann kann man in dieser Mischung mittelst der Nitroprussidnatriumreaktion Indol nachweisen.

Aus Versuch 4 folgt, daß die Peptonwasserkultur keine Stoffe enthält, welche die Indolreaktion beeinträchtigen. Aus den Versuchen 1, 2 und 3 geht hervor, daß unser *Proteus vulgaris* in Peptonwasser einen Stoff bildet, der eine der Nitrosoindolreaktion ähnliche Reaktion gibt (jedoch mit einem anderen Spektrum). Dieser Stoff ist mit Wasserdampf bei 100° nicht flüchtig, wird beim Kochen der Kultur nicht zer setzt, geht aus sauren Lösungen in Aether aceticus über und kann dem Aether aceticus durch Alkalien wieder entzogen werden.

Die in der Bakteriologie übliche Methode für Indolnachweis mittelst der Nitrosoindolreaktion ist also unzuverlässig. Ausschütteln mit Amylalkohol, vorgeschlagen um Täuschung mit gewissen braunen Farbstoffen, welche bei Behandlung der Kulturen mit Schwefelsäure oder Salpetersäure entstehen können, vorzubeugen, hilft hier nicht, denn der unbekannte rote Farbstoff ist auch in Amylalkohol löslich. Am sichersten ist der Nachweis von Indol im Destillat. Man kann aber auch neben der Nitrosoindolreaktion die Reaktion mit Nitroprussidnatrium, Kalilauge und Eisessig anstellen. Parallelversuche mit beiden Reaktionen zeigten, daß sie etwa gleich empfindlich sind, wenn man mit reinen Indollösungen arbeitet; an einer Reihe Kulturen von Indolbildern ausgeführt, schien mir gewöhnlich die Nitrosoindolreaktion etwas empfindlicher. Für die Nitrosoindolreaktion wendete ich immer 25-proz. Salzsäure und  $\frac{1}{2}$ -proz. Natriumnitritlösung an, und zwar setzte ich 10 ccm Kulturflüssigkeit einige Tropfen Nitritlösung und 10 ccm Salzsäure zu. Ich bekam den Eindruck, daß die Reaktion dann schöner ausfällt als in der üblichen Weise mittelst Schwefelsäure und  $\frac{1}{10}$  Proz.  $\text{KNO}_2$ . Ein Nachteil der Nitroprussidnatriumreaktion ist, daß bei Anwesenheit von  $\text{H}_2\text{S}$  auch eine

Farbeänderung auftritt. Ich empfehle darum noch als dritte Reaktion auf Indol die Reaktion mit Dimethylaminobenzaldehyd. Ehrlich<sup>1)</sup> fand, daß dieses Aldehyd in salzsaurer Lösung mit Indol eine rote Farbe gibt. Ich<sup>2)</sup> konnte zeigen, daß diese Farbe durch Nitrite zuerst verstärkt wird und dann bald verschwindet. Man kann diese Methode nicht direkt auf die Kulturflüssigkeit anwenden, denn Dimethylaminobenzaldehyd reagiert auch mit Eiweißkörpern<sup>3)</sup>. Es ist mir aber gelungen, die Methode bakteriologischen Zwecken anzupassen. Auf folgendem Wege bekommt man sehr gute Resultate: In zwei Teilen Kulturflüssigkeit gibt man einen Teil Aether, schüttelt und trennt den Aether im Scheidetrichter von der Kulturflüssigkeit. Der Aether wird filtriert, dem Filtrat ein wenig Alkohol zugesetzt und mit dem Reagenz (2-proz. Lösung von Dimethylaminobenzaldehyd in Salzsäure) in weitem Reagenzrohr (damit der Aether bald verdampft) geschüttelt. Bei Anwesenheit von Indol wird die Flüssigkeit rot. Fügt man jetzt ein oder zwei Tropfen Natriumnitrit (0,5-proz.) zu, so wird die rote Farbe zuerst intensiver und verschwindet dann bald. Auf diese Weise konnte ich in ganz jungen Coli-Kulturen, welche noch keine positive Nitrosoindolreaktion gaben, leicht Indol nachweisen. Der von dem beschriebenen *Proteus vulgaris* gebildete Stoff gibt diese Reaktion nicht.

Es wurden jetzt eine Reihe Mikroorganismen auf ihre Eigenschaft, Indol zu bilden, untersucht. Zur Untersuchung kamen 1-proz. oder 2-proz. Peptonwasserkulturen (Pepton Witte).

Das Resultat war folgendes:

Indol wird gebildet von: *Bact. coli* (3 Stämme), *Spir. Metchnikoff*, *B. denitrificans agilis*, *B. cavidica*, *B. cholera gallinarum*, *B. diphth. columb.*, *Proteus vulgaris* (Král).

Ein Indol vortäuschender Stoff wird gebildet von: *Proteus vulgaris* (Pneumaturiefall von Dr. v. Loghem), *B. ruber balticus*, *Bac. der Pseudodiphtherie*, *B. anthr. sympt.*, *B. prodigiosus*, *Sarcina lutea* (?).

Uebrigens kamen noch zur Untersuchung Kulturen von *Proteus mirabilis*, *B. arborescens*, *B. violaceus*, *Proteus Zopfi*, *Proteus Zenker*, *B. typhi*. Die Untersuchung auf Indol oder Indol vortäuschende Stoffe fiel hier negativ aus.

Die Mikroorganismen wurden, mit Ausnahme der drei Coli-Stämme, des Typhus und des *Proteus vulgaris* (der Pneumaturie) von Král bezogen. In keiner Kultur wurde der neue Stoff in so großen Mengen gefunden, als in der genannten *Proteus*-Kultur. Der *Proteus vulgaris* von Král bildete deutlich Indol, aber daneben auch ein wenig eines Indol vortäuschenden Stoffes. Wahrscheinlich war das aber nicht derselbe Stoff wie in den Kulturen von *Proteus vulgaris* (der Pneumaturie), denn es zeigte sich ein Unterschied in der Farbe und auch im spektroskopischen Verhalten. Ich hatte aber zu wenig zur Verfügung, um dies mit Bestimmtheit sagen zu können. Auch will ich nicht behaupten, daß die in den verschiedenen Kulturen gefundenen Indol vortäuschenden Stoffe mit denjenigen aus der Kultur des *Proteus vulgaris* identisch sind.

Die Versuche waren schon in diesem Stadium, als ich zufällig beim

1) Medizinische Woche. 1901.

2) Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XLVII. p. 25.

3) Rhode, Erwin, Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XLIV. p. 161.



Durchsehen der Literatur eine Arbeit von Hewlett<sup>1)</sup> las, worin der Verf. mitteilt, daß Kulturen von Diphtherie- und Pseudodiphtheriebacillen nach 2 bis 3 Wochen eine positive Nitrosoindolreaktion geben, ohne daß sich Indol in den Kulturen vorfindet. Es ist ihm gelungen, aus diesen Kulturen die Skatolkarbonsäure zu isolieren, die ebenfalls mit Säure und Nitrit Rotfärbung gibt.

Später, wenn mir eine genügende Menge des unbekannten Stoffes aus den Kulturen des *Proteus vulgaris* (der Pneumaturie) zur Verfügung steht, hoffe ich Näheres über die chemische Natur desselben mitteilen zu können, hebe jetzt nur hervor, daß hier die Skatolkarbonsäure wahrscheinlich nicht vorliegt, denn in der — jedenfalls noch unreinen Lösung — fielen die übrigen Reaktionen auf Skatolkarbonsäure negativ aus.

---

*Nachdruck verboten.*

## Ein Schnellfilter für Agarlösungen.

Von Stabsarzt Prof. Dr. v. Drigalski, Cassel.

Mit 1 Figur.

Wie aus zahlreichen bis in die jüngste Zeit bei mir einlaufenden Zuschriften und Anfragen hervorgeht, sind die von mir angegebenen Methoden der Oberflächenzüchtung von Bakterien auf gefärbten und gewöhnlichen Agarnährböden so weit in Aufnahme gekommen, daß erheblichere Mengen von Agarkochungen auch von kleineren Laboratorien innerhalb kürzerer Zeit jetzt weit öfter benötigt werden, als dies früher der Fall zu sein pflegte.

Aus den gleichen Mitteilungen wie aus mehrfachen Veröffentlichungen geht hervor, wie unangenehm noch heute die Schwierigkeit einer einigermaßen befriedigenden Agarfiltration empfunden wird.

Anfang 1903 habe ich mir für die Bedürfnisse der kgl. bakteriologischen Untersuchungsanstalt Saarbrücken ein Agarfilter hergestellt, das den Ansprüchen wirklicher Schnellfiltration wohl genügte. Nachdem es durch verschiedene Verbesserungen eine — wie ich glaube — endgültige Gestalt angenommen und sich vor allen Dingen in jahrelangem steten Gebrauch zuverlässig bewährt hat, wird die Herausgabe dieses Apparates jetzt mit einer gewissen Gewähr erfolgen dürfen.

Ein Schnellfilter für gleiche Zwecke war bereits von Th. Paul in der Münch. med. Wochenschr. 1901. No. 3 angegeben worden; bei diesem steht ein Kessel mit Lochboden auf einem zweiten, der als Untersatz dient, eine Kiessandschicht mit 5 verschiedenen Lagen bildet die Filterschicht. Diesem Apparat, mit welchem die Typhuskommission in Tier und Saarbrücken 1902 zu arbeiten versucht hatte, haftet aber vor allem der Fehler an, daß Niederschlagswasser von der Außenseite des Obertheiles in den für den filtrierten Agar bestimmten Unterteil gerät, wenn, wie es bei Filtration größerer Mengen notwendig ist, diese im Dampftopf vor sich geht. Ein Blick auf die in No. 3 der Münch. med. Wochenschr. 1901 gegebene Abbildung erklärt dieses Vorkommnis. — So verdarben durch zu starke Wasserverdünnung häufig die teureren Kochungen. Der-

---

1) Transact. of the path. Soc. of London. Vol. LII. p. 113.

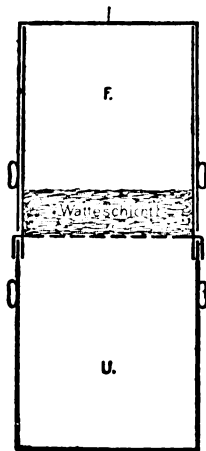
artige Einrichtungen sind ganz unzuverlässig, auch wenn, wie wir es versuchten, eine Gummidichtung zwischen Ober- und Unterteil angebracht wird; sie ist zu leicht Schädigungen ausgesetzt und schützte uns gleichfalls nicht vor jenen übeln Zufällen. Dazu kommt die ärgerliche Unbequemlichkeit, welche die Verwendung einer schwer sterilisierbaren und allzu rasch verschlickenden Sand-Kiespackung mit sich bringt.

Der erste Uebelstand — die Möglichkeit des Eindringens von Kondenswasser — findet sich übrigens auch heute noch an zahlreichen, bakteriologischen Zwecken dienenden Apparaten, z. B. den Kochkesseln (Einsätzen für den Dampftopf) mit den üblichen flachen Deckeln mit eingreifendem Falz. Völlig sicher und ganz einfach wird er durch Anwendung übergreifender Ränder, welche wie eine Regentraufe wirken, verhindert: denn die Abkühlung der Räume im Dampftopf und seinen Einsätzen erfolgt stets von außen, in dem Einsatz ist daher die Tension des Wasserdampfes eine stärkere als außerhalb im Dampftopf selbst, ein Eindringen und Niederschlagen von Dampf kann also niemals etwa durch die Fugen zwischen lose einander aufsitzenden Gefäßen oder ihren Deckeln erfolgen, wenn Kochwärme in ihnen erreicht ist. Kondenswasser tropft nur von außen, besonders der Innenfläche des Dampftopfdeckels auf die Einsätze. Bei eingefalzten („Einsatz-“) Deckeln folgt es der Deckel- und Kesselfläche und gelangt so vermöge der Adhäsion durch die Fugen oft in ganz unerwünschter Menge in die Gefäße hinein. Bei übergreifenden Rändern der Deckel etc. ist das nicht möglich.

Den aus Sand und Kies bestehenden Filterkörper habe ich anfangs durch Filterleinwand mit ganz gutem Erfolge ersetzt, aber es dauerte die Filtration von ca. 3 l dabei doch noch etwa 1 Stunde. Nachdem mich Herr Dr. Conradi auf die Zweckmäßigkeit entfetteter, 1 Stunde lang in strömendem Dampf sterilisierter Watte aufmerksam gemacht hatte, ging ich zu diesem Material über. Bei diesen Versuchen stellte sich dann heraus, daß die gewöhnliche billige, „ungeleimte, nicht entfettete“ Watte (Stopfwatte) erheblich Besseres leistete, und daß die Filtrierfähigkeit zunahm, wenn die Wattedeckung bedeutend längere Zeit unmittelbar vor ihrer Verwendung im strömenden Dampf gestanden hatte. Es kommt dabei nicht mehr auf die durch Erhitzung bewirkte Sterilisierung an, sondern auf die Auflockerung und innige Verfilzung, welcher der Stoff bei längerer Einwirkung des Dampfes unterworfen wird.

Es lag nahe, dieses zugleich mit der Bereitung der Nähragar-kochung zu erreichen, und der Apparat ist nun so eingerichtet, daß gleichzeitig die Nähragarlösung fertig gekocht, die Wattedeckung gedämpft und ein zweites Kochgefäß, für die Aufnahme des filtrierenden Agars bestimmt, in dem strömenden Dampf sterilisiert wird. Die beigefügte Abbildung erläutert seine Einrichtung ohne weiteres. In den Untersatz *U* kommt die betreffende Nährlösung mit Agar (also z. B. Fleischwasser mit 1 Proz. Pepton, 1 Proz. Nutrose,  $2\frac{1}{2}$  Proz. zerkleinerten Agars), in den auf diesem aufsitzenden Oberteil *F* mit gelochtem Boden eine 4-fache Lage gelber, ungeleimter Watte, über diesen der gleichzeitig als Deckel dienende übergreifende zweite Kessel. Ist nach etwa 3 Stunden (oft schon früher) Lösung der Agarmasse eingetreten, so wird das Ganze (zweckmäßig an Bindfaden, welche an den Seitengriffen des Apparates befestigt werden können) aus dem Dampftopf gehoben, der obere Kessel

Zweiter  
übergestülpter Kessel



abgenommen, der Filteraufsatz mit dem durchlochtem Boden und der ausgedampften Watteschicht auf diesen gesetzt und aus dem Untersatz die Nährlösung in das Filter gegossen. In wenigen Minuten laufen 3 l klar durch; ist die Wirkung der ersten Filtration noch keine befriedigende (gewöhnlich genügt sie bereits), so ist ohne Schwierigkeit, Zeitverlust und ohne daß Verunreinigungen zu befürchten wären, eine zweite Filtration anzuschließen; der Filteraufsatz wird dann wieder auf den jetzt geleerten ersten Kessel gesetzt, der ja völlig steril ist und höchstens mit etwas heißem Wasser ausgeschwenkt wird.

Fehlschläge sind nicht zu befürchten, wenn man darauf achtet, daß die Watteschichten der Wand des Filterkessels gut anliegen.

Als Vorteile dieses Verfahrens springen ohne weiteres die Umstände in die Augen, daß man an Zeit, demgemäß auch an Kochgas spart, daß ein einziger Kochscher Dampftopf genügt, um gleichzeitig die Kochung der Nährlösung, die Vorbereitung des Filters und die Sterilisierung des zweiten bereit zu haltenden Kessels zu erreichen, und daß die Verwendung irgendwie zerbrechlichen Materials, wie gläserner Trichter, Kochkolben etc., sowie des oft einreißenden Filtrierpapierses ganz vermieden ist. Will man ohne Dampftopf auskommen, so stellt man den Apparat einfach in ein Wasserbad. So können im Notfall z. B. „fliegende Laboratorien“ des Dampftopfes bei der Nährbodenbereitung ganz entbehren.

Es ist aber noch eines anderen Umstandes zu gedenken: Ich habe — was nicht allgemein bekannt zu sein scheint — ganz regelmäßig feststellen können, daß längeres Kochen die Erstarrungsfähigkeit des Agars stark beeinträchtigt. Setzt man eine Agarlösung höheren Temperaturen (107° und mehr) aus, so erstarrt sie überhaupt nicht mehr; diese Masse zeigt sich also ähnlich, wenn auch bei weitem nicht so empfindlich wie die Gelatine. Bei dieser schonenden Behandlung, wie sie die Agarnährlösung in dem angegebenen „Kochfilter“ erfährt, genügt dementsprechend für die Herstellung eines schon recht festen Nährbodens ein Zusatz von 2,5 Proz. Stangenagars; auch schon ein solcher von 2 Proz. gestattet einen sehr bequemen Oberflächenausstrich mit Glasspatel und genügt für die meisten Zwecke.

Weit empfindlicher noch als dieses Kolloid sind die Eiweiße — die teuersten Bestandteile der Nährlösungen. Seitdem ich diese keiner länger andauernden Erhitzung, wie sie die frühere langdauernde Agarfiltration mit sich brachte, mehr aussetze, beobachte ich ein außerordentlich üppiges Wachstum auch solcher Bakterien, die mir früher stets eine sichtlich zartere und dürrigere Kultur ergaben. Dies gilt nicht nur für Typhus-, Ruhr-, sondern auch für Pneumokokken-, Streptokokken- und auch Meningokokkenstämme, auch Kulturen von solchen, für welche z. B. im Institut für Infektionskrankheiten ein mit Pepton Chapeautot bereiteter Nährboden verlangt wurde, wachsen auf meinem nach gewöhnlicher Vorschrift mit Pepton Witte hergestellten Nähragar sehr üppig und bereitwillig.

Will man für besondere Zwecke einen „spiegelblanken“ Agar erzielen, so empfehle ich den Zusatz von 2 Eiern zu 2 l Agarlösung; sie

werden — Eiweiß und Eigelb — stark schaumig geschlagen von vorn herein der Kochung beigelegt, kochen also die ganze Zeit mit.

Eine Reihe seit längerer Zeit fortgesetzter Versuche haben, wie ich hierbei bemerken will, dazu geführt, für den Nachweis minder empfindlicher Bakterien, wie Ruhr, Typhus, Cholera u. a. unter Weglassung des teuren Fleischzusatzes billige und völlig hinreichende Nährlösungen herzustellen. Hierüber wird noch berichtet werden.

Das von mir angegebene Agarfilter hat die Firma F. & M. Lautenschläger, Berlin N., Oranienburgerstraße, mit Musterschutz versehen lassen, der Apparat ist in einwandfreier Ausführung und in Abmessungen, welche für den üblichen  $25 \times 50$  cm haltenden Dampftopf passen, von dieser Fabrik zu beziehen.

Durch seine Verwendung bin ich seit Jahresfrist in einem kleinen Laboratorium, das nur einen Dampftopf besitzt, in der Lage gewesen, zahlreiche Massenuntersuchungen auszuführen, ohne je wegen der verschiedenartigsten Nährböden in Verlegenheit zu kommen.

---

*Nachdruck verboten.*

## Ueber einen Käfig mit automatischem Urinabfluß für mittelgrosse Laboratoriumstiere.

Von Dr. **Alfred Wolff-Eisner.**

Mit 3 Figuren.

Jeder, der im Laboratorium mit Tieren zu arbeiten gewohnt ist, hat wohl besonders bei den für Meerschweinchen üblichen Käfigen eine Reihe von Unzuträglichkeiten beobachtet. Die Käfige bestehen meist aus Glas; bei dem im Interesse der Reinlichkeit und zur Vermeidung der Uebertragung von Stallseuchen notwendigen Desinfektion resp. Sterilisation zerspringen die Gefäße sehr leicht, so daß das Arbeiten mit diesen Käfigen ziemlich teuer wird. Die Metallkäfige haben andere Nachteile, sie oxydieren, das Tier sitzt im Dunkeln; die Käfige sind schlecht zu reinigen und schwer.

Noch größer ist ein anderer Uebelstand. Die Meerschweinchen lassen außerordentlich viel Urin, der sehr schnell der ammoniakalischen Gärung anheimfällt und die Laboratoriumsluft verunreinigt; man vermeidet es daher nach Möglichkeit, Tiere im Laboratoriumsraum selbst zu halten. Es braucht nicht erwähnt zu werden, daß es im Interesse der besseren Beobachtung und des besseren Zurhandhabens der Tiere an sich erwünscht wäre, die im Experiment befindlichen Tiere im Arbeitsraum selbst zu haben.

Die Meerschweinchen sitzen in den Käfigen sehr bald naß; man sucht dies zu verhindern, indem man Hafer, Heu oder Torfmull unterlegt. Am ratsamsten ist noch Torfmull, wie ich neuerdings ausprobiert habe, in Kombination mit Heu, welches, ähnlich wie ein Mistbeet, die Eigenschaft hat, daß nicht, wie im Torf allein, eine kalte Nässe, sondern feuchte Wärme entsteht, gegen welche die Meerschweinchen weniger empfindlich sind. Spätestens alle 3 Tage muß jedoch der naß und übelriechend gewordene Käfig wieder gereinigt werden.

Da in der großen Mehrzahl der Laboratorien die Zahl der Diener

eine beschränkte ist und die Reinigung der naß gewordenen Käfige deren Arbeitskraft außerordentlich in Anspruch nimmt, wandte ich meine Aufmerksamkeit darauf, einen Tierkäfig zu konstruieren, bei dem diese Uebelstände möglichst in Fortfall kämen. Nach einigen Versuchen glaube ich ein brauchbares Modell in folgender Weise hergestellt zu haben:

Der Käfig besteht aus einem luftdurchlässigen Eisendrahtgeflecht, das verzinkt und oben mit Deckel versehen ist. Die Käfige stehen mit

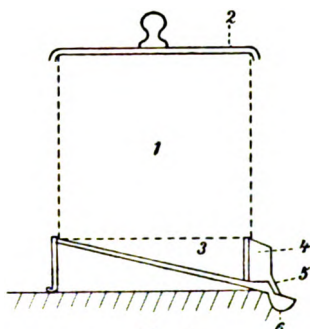


Fig. 1.

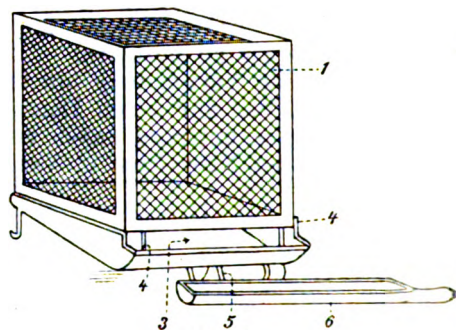


Fig. 2.

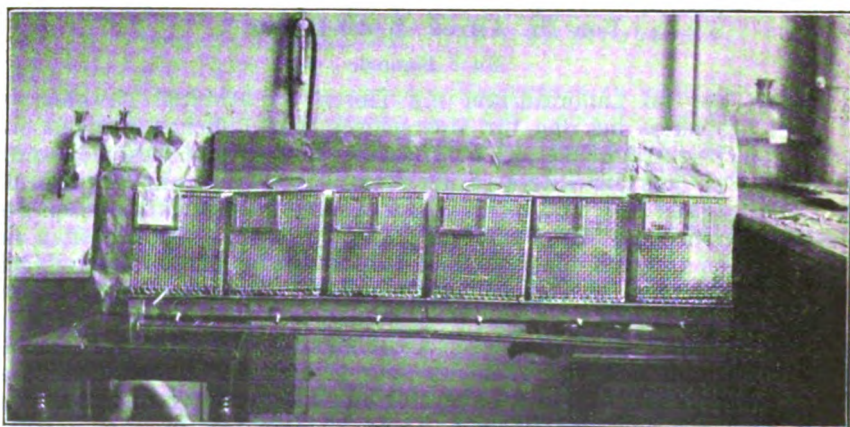


Fig. 3.

Füßen auf einer geneigten Unterlage, welche automatisch den Abfluß des Urins bewirkt und so eingerichtet ist, daß der Käfig selbst horizontal steht. Die Luft hat von unten und den Seiten Zugang, so daß die Tiere nicht stagnierende Luft, wie in Glas- und Metallkäfigen, zu atmen haben. Der Urin fließt vollständig selbsttätig ab und brauchen infolgedessen die Käfige sehr wenig Bedienung, da der trockene Kot das Wohlbefinden der Tiere nicht schädigt. Ein Teil desselben fällt übrigens noch von selbst durch die Maschen. Die Tiere befinden sich in den Käfigen, wie die Versuche ergeben haben, wohl. Durch ihre starke Verzinkung sind die Käfige gegen Rost geschützt und sind daher ohne Schaden im Dampftopf sterilisierbar.

Von den Käfigen fließt der Urin in eine Rinne, die zu einem Sammelgefäß (oder zur Wasserleitung) führt, in welches der Urin von beliebig vielen Tieren geleitet werden kann. Es ist jedoch auch ohne jede Schwierigkeit möglich, den Urin eines jeden Einzelkäfigs gesondert aufzufangen und so den Einfluß experimenteller Maßnahmen auf die Nieren von Meerschweinchen, Ratten etc. zu prüfen, was bisher mit Schwierigkeiten verbunden war.

Die Käfige können entweder einzeln nebeneinander gestellt werden oder es werden 6—8 Stück nebeneinander auf einer gemeinsamen Unterlage montiert. Für diejenigen Laboratorien, die mehr als 6—8 Käfige gebrauchen, ist es am rationellsten, derartige Käfige etagenweise übereinanderzusetzen. Es ist hierbei jeder einzelne Käfig leicht zugänglich, und wird es auf diese Weise möglich, geruchlos auf geringem Raum eine große Anzahl von Tieren im Laboratorium selbst aufzubewahren.

Ich glaube, daß ein solcher Käfig — einmal vorhanden — einem Bedürfnis entsprechen wird. Nach einer von mir angestellten Berechnung werden mit ihm pro Käfig und Jahr ca. 3 M. an Torf- und Heunterlage erspart. Die Käfige (D. R. Gebr. Musterschutz) sind von **Louis & H. Löwenstein, Berlin**, Ziegelstraße 28 zu beziehen, der Preis wird sich pro Käfig auf 5—6 M. inkl. Deckel stellen. Viereckige Glaskäfige gleicher Größe (Präparatengläser) mit Deckel hatten bisher ca. 4 M gekostet.

In jedem Einzelkäfig können zwei mittelgroße Meerschweinchen (250—350 g) untergebracht werden.

---

### Berichtigung.

In meiner Arbeit: „Ueber den Befund von Rhizopoden bei zwei Fällen von Polio-myelitis acuta“. Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bdl. XL. Heft 5 hat nach meiner Korrektur eine Verwechslung einiger Figurenzahlen stattgefunden. Unter dem Textbild steht „Fig. 4. Färbung mit Loefflers Methylenblau“. Diese Zeile geht an dieser Stelle aus; sie ist in der Bildererklärung p. 653 einzufügen, da sie sich auf die Fig. 4 der Tafel bezieht. p. 649, Zeile 5 von unten steht (Fig. 4) anstatt (Textbild).

Kurz ausgedrückt stellt also das ungefärbte Textbild das lebende Objekt, die Fig. 4 der Tafel dagegen zwei Individuen, mit Loefflers Methylenblau gefärbt, dar.

Dr. V. Ellermann.

---

## Inhalt.

- Bandini, P.**, Die Wirksamkeit des Formalins und des Wasserstoffsuperoxyds in der Milch, p. 271.
- Besser, Karl**, Versuche zur Züchtung der Cholera vibrionen, p. 286.
- Bourquin, J.**, Un nouveau Taenia (Davainea) chez les Prosimiens, p. 222.
- Cagnietto, Giovanni**, Ueber das Verhalten des Rotzvirus im Harne und seine Ausscheidung durch die Nieren. (Schluß), p. 173.
- Citron, Julius**, Ueber natürliche und künstliche Aggressine, p. 230.
- v. Drigalski**, Ein Schnellfilter für Agarlösungen, p. 298.
- Eisenberg, Philipp**, Weitere Untersuchungen über den Mechanismus der Agglutination und Präzipitation. (Schluß), p. 240.
- Fuhrmann, O.**, Die Tänien der Raubvögel. (Schluß), p. 212.
- Ghon, A., Mucha, V. und Müller, E.**, Beiträge zur Kenntnis der anaeroben Bakterien des Menschen. IV. Zur Ätiologie der akuten Meningitis. (Forts.), p. 145.
- Höyberg, H. M.**, Fütterungsversuche mit trichinösen Fäkalien, p. 210.
- Klein, B.**, Notiz über den Dysenteriebacillus und das Dysenterietoxin, p. 201.
- Kraus, E. und Frißram, E.**, Ueber Cholera vibrionen und andere pathogene Vibrionen. I. Ueber die Beziehungen der Cholera vibrionen El Tor zu dem Cholera vibrio. (Schluß), p. 155.
- Levy, E. und Fornet, W.**, Nahrungsmittelvergiftung und Paratyphus, p. 161.
- Lewkowicz, Xaver**, Ueber die Reinkulturen des fusiformen Bacillus, p. 153.
- Macfadyen, Allan**, Ueber die Eigenschaften eines von Ziegen gewonnenen Antityphusserums, p. 266.
- Metalnikoff, S.**, Die Tuberkulose bei der Bienenmotte (Galeria melonellae). (Schluß), p. 188.
- Mühlens, P. und Hartmann, M.**, Zur Kenntnis des Vaccineerregers. (Forts.), p. 203.
- Pfeiffer, E. und Friedberger, E.**, Beitrag zur Lehre von den antagonistischen Serumfunktionen, p. 223.
- Sanfelice, Francesco**, Ueber die pathogene Wirkung der in die Trachea geimpften Blastomyceten. (Forts.), p. 195.
- Serkowski**, Prophylaktische Vaccination gegen die Cholera in Lodz, p. 255.
- Slatineanu, A.**, L'endo-toxine du coccobacille de Pfeiffer, p. 185.
- Steensma, F. A.**, Ueber den Nachweis von Indol und die Bildung von Indol vortäuschenden Stoffen in Bakterienkulturen, p. 295.
- Strössner, Edmund**, Untersuchungen über die bakterizide Kraft des Rohlysoforms, p. 280.
- Wolf-Eisner, Alfred**, Ueber einen Käfig mit automatischem Urinabfluß für mittelgroße Laboratoriumstiere, p. 301.

**Berichtigung**, p. 303.

---

*Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einreichung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.*

---

Nachdruck verboten.

## Beiträge zur Kenntnis der anaëroben Bakterien des Menschen.

[Aus dem pathologisch-anatomischen Institute in Wien (Vorstand: Prof. Dr. A. Weichselbaum).]

### IV. Zur Aetiologie der akuten Meningitis.

Von Prof. Dr. A. Ghon, Dr. V. Mucha und Dr. R. Müller.

Mit 2 Tafeln und 5 Textfiguren.

(Fortsetzung.)

In Lackmus-Mannitagar konnte wohl Entwicklung mit vollständiger Entfärbung, doch niemals Gasbildung nachgewiesen werden.

Der Bacillus bildete, wie schon erwähnt wurde, Gas, und zwar in verschieden reichlicher Menge. Die Gasbildung war im allgemeinen um so reichlicher, je rascher hintereinander die Ueberimpfungen erfolgten. Der Geruch des Gases war kein intensiver und genau bestimmbarer; nur Schwefelwasserstoff war deutlich bemerkbar.

Die Gasanalyse einer 5 Tage alten Zuckerfleischbrühekultur im Kölbchen nach Smith ergab:

CO <sub>2</sub>	= 37,98 Proz. <sup>1)</sup>
N	= 4,13 "
H	= 57,89 "

1) Der Gang der Untersuchung, die von einem von uns (Dr. Mucha) im Universitätslaboratorium für medizinische Chemie (Vorstand: Prof. Dr. E. Ludwig) ausgeführt wurde, war folgender:

Gas (feucht):	
Gasvolumen	99,0
Temperatur	19,1°
Druck	680,55 mm
Gasvolumen auf 0° und 1 m Quecksilber reduziert	63,635
Gas — Kohlensäure (trocken):	
Gasvolumen	62,9
Temperatur	19,2°
Druck	659,0 mm
Gasvolumen auf 0° und 1 m Quecksilber reduziert	37,98
Analyse im Eudiometer:	
Gas von CO <sub>2</sub> befreit (feucht):	
Gasvolumen	121,3
Temperatur	19,8°
Druck	255,62 mm
Gasvolumen auf 0° und 1 m Quecksilber reduziert	32,024
Gas von CO <sub>2</sub> befreit + Luft (feucht):	
Gasvolumen	337,0
Temperatur	19,6°
Druck	473,53 mm
Gasvolumen auf 0° und 1 m Quecksilber reduziert	154,92
Gas nach dem Verpuffen (feucht):	
Gasvolumen	274,0
Temperatur	19,8°
Druck	410,32 mm
Gasvolumen auf 0° und 1 m Quecksilber reduziert	110,08

Äetzkali absorbierte nichts.

Nach Zusatz von Knallgas zu einer neuen Probe des Gases und Verpuffen trat keine Kontraktion ein, wodurch die Abwesenheit von Sauerstoff bewiesen ist.



Der Bacillus wuchs sowohl bei Brut- als auch bei Zimmertemperatur (21—22° C), doch war bei dieser die Entwicklung eine entsprechend langsamere und die Gasbildung eine geringere.

Für das Wachstum war schwach alkalische Reaktion des Nährbodens die beste. Bei Zusatz von ca. 0,2—0,3 ccm Normalnatronlauge zu lackmusneutralem Traubenzuckeragar erfolgte Entwicklung und Gasbildung in üppigster Weise. Aber auch stärkere Alkaleszenz des Nährbodens beeinträchtigte das Wachstum nicht wesentlich. Erst bei Zusatz von 0,7—0,8 ccm Normalnatronlauge wurde die Entwicklung und Gasbildung eine verzögerte und geringe, konnte aber auch noch bei einem Zusatz von 1,0 ccm Normalnatronlauge nachgewiesen werden.

Saure Reaktion des Nährbodens beeinträchtigte entschieden Entwicklung und Gasbildung. Bei Zusatz von 0,1 ccm Normalmilchsäure zu lackmusneutralem Traubenzuckeragar erfolgte noch in spärlicher Menge Wachstum und Gasbildung, bei Zusatz von 0,2 ccm jedoch nicht mehr.

Der Bacillus war in den Kulturen recht lange lebensfähig. Wir konnten anstandslos die Kulturen überimpfen, auch wenn sie mehrere Monate lang aufbewahrt wurden. Es war dabei gleichgültig, ob die Kulturen in Traubenzuckeragar, erstarrter Hydrokelen- oder Ascitesflüssigkeit, Gelatine oder Milch etc. angelegt waren und gleichgültig, ob die angegangenen Kulturen im Eiskasten, bei Zimmertemperatur oder im Thermostaten (37° C) gestanden hatten. Auch Kulturen in Traubenzuckeragar, die 12 Monate lang bei 37° C — geschützt vor Austrocknung durch Ueberschichtung und Guttaperchaverschluß — aufbewahrt waren, konnten anscheinend ohne Verzögerung im Wachstum wieder überimpft werden.

### Tierpathogenes Verhalten.

Ueber die pathogenen Eigenschaften des Bacillus unseren gebräuchlichen Versuchstieren gegenüber konnten wir erschöpfende Untersuchungen nicht durchführen, da es uns erst möglich wurde, mit späteren Generationen Impfungen an Tieren vorzunehmen.

Verwendet wurden für die Versuche zumeist Meerschweinchen und zwar durchaus junge Tiere. Sowohl subkutane als auch intraperitoneale Injektionen von Kulturen in Zuckerfleischbrühe oder Zuckergelatine verschiedenen Alters verliefen in der Mehrzahl der Fälle reaktionslos. Einige der subkutan geimpften Tiere zeigten kleine derbe Infiltrate, die sich langsam zurückbildeten.

Einmal ging ein Meerschweinchen von 115 g Körpergewicht nach subkutaner Injektion von 2 ccm einer 56-stündigen Zuckergelatinekultur nach ca. 14 Stunden ein:

Die Sektion ergab: Das Unterhautgewebe der Injektionsstelle und ihrer Umgebung bis gegen die Flanken und Inguinalbeugen zu sulzig, graugelblich, zum Teil wie nekrotisch. Die inguinalen Lymphdrüsen der Injektionsseite entsprechend (rechte Bauchseite) etwas größer als die der anderen Seite. Milz klein. Nebennieren gelb. Nieren und Leber gelblichbraun. Darm ohne Veränderungen. Lungen mäßig blutreich.

Deckglaspräparate von der Injektionsstelle zeigten ziemlich viele Eiterzellen und in mäßiger Menge Bacillen vom Typus der injizierten, die zum Teil auch intracellulär lagen.

Die angelegten Kulturen hatten folgendes Ergebnis:

1) Injektionsstelle:

a) Aërob: steril.

b) Anaërob: Wachstum von Bacillen, die völlig den injizierten entsprachen.

2) Herzblut:

a) Aërob: steril.

b) Anaërob: steril.

Versuche, die mit noch späteren Generationen ausgeführt wurden, zeigten, daß sich diese geringen pathogenen Eigenschaften lange Zeit erhalten hatten. So konnten wir nach mehr denn 2-jährigem Fortzüchten der Kultur im Brutkasten in ca. 200 Generationen bei jungen Meer-schweinchen ähnliche Infiltrate nach subkutaner Injektion erzeugen, wie mit den früheren Generationen. Junge Kaninchen reagierten mit noch größeren Infiltraten und Allgemeinerscheinungen. Sie waren mehrere Tage nach der Injektion matt und hinfällig und zeigten an der Injektions-stelle ein stark erhabenes, pralles Infiltrat von fast Nußgröße, dessen Peripherie stark gerötet war, während der zentrale Teil schon nach 48 Stunden eine schmutzig-graugrüne Färbung zeigte. Gasblasen waren nicht tastbar. Nach wenigen Tagen sank der zentrale Teil ein, so daß das Infiltrat ein kraterförmiges Aussehen zeigte. Langsam verwandelte sich der zentrale nekrotische Teil in einen Schorf, der später abfiel, worauf das entstandene Geschwür langsam abheilte.

Mikroskopisch zeigten solche Infiltrate in den zentralen Partien eine nekrotische Masse, in der man noch Kerntümmer erkennen konnte, nach außen zu aber einen scharf begrenzten Wall von Granulations-gewebe. Vornehmlich in den zentralen Partien ließen sich reichlich Bacillen von jenen Formen nachweisen, wie sie den zur Impfung verwendeten entsprachen.

Bei intraperitonealer Infektion reagierten junge Kaninchen (400—500 g) nur mit vorübergehenden leichten Krankheitserscheinungen.

Junge Tauben, denen bis 2,5 ccm einer 48-stündigen Zucker-gelatinekultur intramuskulär einverleibt wurden, blieben ohne Reaktion.

### Fall III.

Die 40-jährige Patientin I. Sch. bemerkte seit ihrem 14. Lebensjahre Ohrenfluß. Nur zur Zeit der Menstruation litt sie durch einige Tage an Kopfschmerz, sonst war sie frei davon.

Seit 5—6 Jahren hatte Patientin einen Polypen im rechten Ohre, den sie zunächst mit Ausspritzungen behandelte. 5 Wochen vor ihrer Spitalsaufnahme wurde ihr an der Ohrenklinik (Prof. Dr. Politzer) der Polyp entfernt, worauf sie durch 8 Tage mit starken Schmerzen hinter und vor dem Ohre, mit Fieber und Erbrechen zu Bette lag.

Am 17. Febr. 1904 wurden ihr die Reste des Polypen mit Lapis gebrannt, worauf sich wieder Schmerzen und Erbrechen einstellten. Deshalb erfolgte am 18. Febr. Aufnahme auf die Klinik.

Bei der Aufnahme hatte Patientin kein Fieber, erbrach aber mehrmals in der Nacht. Am rechten Ohre war Totaldestruktion mit fötid-eiteriger Sekretion nachweisbar, sowie Defekt der äußeren Attikawand und es bestand Druckempfindlichkeit des Warzenfortsatzes. Am linken Ohr fand sich Cerumen im äußeren Gehörgang sowie Atrophie und Verkalkung des Trommelfelles mit Perforation.

Am 19. und 20. Febr. fieberte Patientin.

Am 21. Febr. typische Radikaloperation (Dr. Neumann), wobei sich im Antrum Eiter und Granulationen vorfanden. Die freigelegte Dura schien intakt.

Das Fieber blieb bestehen, dazu gesellten sich am 23. Febr. Erscheinungen von Facialisparese, später Kreuzschmerzen und Nackensteifigkeit.

Am 26. Febr. wurde Lumbalpunktion gemacht, wobei sich trübe Flüssigkeit, mit Flocken untermengt, entleerte. Am gleichen Tage erfolgte noch die Freilegung der mittleren rechten Schädelgrube und die Exploration des Schläfenlappens und Kleinhirns. Eiter entleerte sich dabei nicht, die Dura erschien unverändert.

Am 27. Febr. 1904 um 3 Uhr früh Exitus.

Auszug aus dem Sektionsbefund (Obduktion 6 Stunden p. m., Assistent Dr. J. Bartel):

Frische fibrinös-eiterige Meningitis der Basis des Gehirns. Frische Hämorrhagieen der Leptomeninx (vom Infundibulum entlang der Brücke

nach abwärts gegen das Cervikalmark sich erstreckend). Oedem des Gehirns. Akuter innerer Hydrocephalus. Parenchymatöse Degeneration des Herzfleisches und der Leber. Akute hämorrhagische Nephritis. Akute Enteritis des Dünn- und Dickdarms. Akuter Milztumor. Pleuraschwiele an der rechten Lungenspitze. Lockere bindegewebige Anwachsung der hinteren Partien beider Lungen.

Die inneren Hirnhäute an der Basis über dem verlängerten Mark und der Brücke von schwärzlich-roten Blutmassen bedeckt, über dem Chiasma und im Bereiche der Sylvischen Furchen von schmutzig-graugelben, stinkenden Exsudatmassen durchsetzt. Die gleichen Exsudatmassen als inselförmige Einlagerungen in den inneren Hirnhäuten der Schläfenpole und an den unteren Flächen beider Stirnlappen, am Oberwurm, an der medialen Fläche des rechten Stirnlappens und am rechten Nervus acusticus. An der Konvexität die inneren Hirnhäute gegen die Mantelkante zu entlang den Gefäßen weißlich und verdickt, die Venen stark gefüllt. Die Seitenventrikel stark erweitert und erfüllt von graurötlicher, dünner Flüssigkeit, im 4. Ventrikel Blutkoagula in spärlicher Menge.

### Bakteriologischer Befund.

1) Deckglaspräparate (Taf. II, Fig. 12 u. 13) von der Ventrikelflüssigkeit (steril entnommen) zeigten in ziemlich reichlicher Menge Bakterien, die verschiedenen Formen angehörten: Am zahlreichsten waren gramnegative Bacillenformen, meist schmal (Taf. II, Fig. 12), aber verschieden lang, gerade oder leicht gebogen; viele dieser Formen erschienen an den Enden oder in der Mitte wie gebläht und viele an ihren Enden etwas spitzer als in der Mitte; diese bildeten den Uebergang zu typischen Vibrionenformen. Viel spärlicher fanden sich grampositive Kokken (Taf. II, Fig. 13), einzeln oder zu zweien oder auch in kurzen Ketten. Die Kokken waren rundlich oder länglich, manchmal lanzettförmig. Es war oft schwierig, zu entscheiden, ob es sich bei den länglichen Formen noch um Kokken oder schon um Bacillen handelte. An einigen Stellen waren diese Gebilde anscheinend von typischer Stäbchenform.

Kulturen (Ventrikelflüssigkeit):

I. Plattenstrichkulturen auf:

a) Agar: steril (Beobachtung 3 Tage).

b) Agar mit Hydrokelenflüssigkeit: steril (Beobachtung 3 Tage).

c) Agar mit Blut: 1 Kolonie im ersten Strich.

Diese Kolonie bestand aus grampositiven Kokken, die, auf Agarplatten übertragen, ziemlich kleine, flache Kolonien von grauweißer Farbe bildeten mit bläulichem Stich im durchfallenden Lichte. Mikroskopisch erschienen die Kolonien gleichmäßig gekörnt und zeigten in den Randpartien kurze Ketten.

In Bouillon bildeten die Kokken eine zarte, diffuse Trübung und einen ziemlich festen, grobflockigen Satz, in Gelatine zeigten sie Wachstum bei Zimmertemperatur entlang dem ganzen Impfstiche.

II. Schüttelkulturen in Traubenzuckeragar (hohe Schicht) ließen schon nach 48 Stunden zahlreiche kleinste Kolonien erkennen, grau im durchfallenden Lichte und ohne besondere Merkmale. Die Kolonien gehörten scheinbar einer Art an und bestanden aus gramnegativen kleinen Bacillenformen, die meist leicht gebogen waren und manchmal an den Enden spitz erschienen.

Die weitere Untersuchung der Kulturen bestätigte, daß tatsächlich nur die eine Bakterienart angegangen war. Auch Kokken ließen sich in den anaëroben Kulturen nicht nachweisen.

Die bakteriologische Untersuchung der Lumbalpunktionsflüssigkeit, die einen Tag vor dem Tode der Patientin zur Untersuchung an das Institut eingeschickt worden war, ergab einen ähnlichen Befund. Die Deckglaspräparate zeigten die gleichen Bakterienformen und die angelegten Plattenstrichkulturen auf Agar und Serumagar blieben steril.

Anaërobe Kulturen waren von der Lumbalpunktionsflüssigkeit nicht angelegt worden.

### Histologisch-bakteriologischer Befund.

Der Subarachnoidalraum an einzelnen Stellen ziemlich reichlich, an anderen wieder spärlicher von Exsudatmassen durchsetzt, die vorwiegend aus mehrkernigen Rundzellen bestehen, deren Kerne nicht selten Zerfallserscheinungen zeigen. Die Maschenräume der Arachnoidea und Pia gelockert und gleichfalls von Eiterkörperchen durchsetzt. An einzelnen Stellen der Pia ein engmaschiges Netzwerk verschieden dicker Fibrinfasern. Die Gefäße prall gefüllt. Die Gehirnsubstanz selbst ohne entzündliche Veränderungen.

In Schnitten, die mit Boraxmethylenblau gefärbt waren, konnte man schon mit schwacher Vergrößerung blaue Wolken sehen, die aus Bakterien bestanden. Die Bakterien gehörten verschiedenen Formen an: Am zahlreichsten fanden sich schlanke, aber verschieden lange Formen, die selten gerade, meist leicht gebogen waren, sehr häufig typischen Vibrionen entsprachen (Taf. II, Fig. 14). Sie waren an den Enden meist etwas spitz. Die Vibrionenformen zeigten häufig typische Kipfform. Diese Bakterien lagen einzeln oder in Gruppen, häufig parallel zueinander und dann Büschel bildend. Sehr zahlreich bildeten sie „S“- und „3“-Formen (Taf. II, Fig. 14). Längere Fäden sah man nicht. In geringerer Anzahl fanden sich Kokken, einzeln, zu zweit oder in kürzeren Ketten, teils rundlich, teils länglich. Nicht selten war es schwierig, ja manchmal sogar unmöglich, zu entscheiden, ob die länglichen Formen noch Kokken angehörten oder Bacillen darstellten, die dann als dritte vorhandene Bakterienart anzusehen wären.

Die Bakterien lagen sowohl innerhalb als auch außerhalb der Eiterzellen.

In Schnittpräparaten, die nach der Methode von Gram-Weigert gefärbt waren, ließen sich noch alle Formen der beschriebenen Arten nachweisen, doch erschienen die erst beschriebenen schlanken Bacillen- und Vibrionenformen häufig segmentiert gefärbt. In Schnitten jedoch, die nach der Methode von Gram tingiert waren, sah man an keiner Stelle die schlanken Formen, sondern nur die Kokken und jene kurzen Formen, bei denen ein Entscheid, ob sie Kokken oder Bacillen darstellten, auch hier vielfach unmöglich war.

Die schlanken Formen und die Vibrionen, die untereinander Uebergänge zeigten, waren demnach gramnegativ, übereinstimmend mit dem Befunde in den Deckglaspräparaten.

Das isolierte gramnegative Bakterium zeigte folgende Eigenschaften:

### Morphologisches Verhalten.

Das Bakterium war im allgemeinen durch keinen allzu großen Formenreichtum ausgezeichnet. Die häufigst gesehene Form war die

eines sehr schlanken, doch verschieden langen Stäbchens, das meist leicht gebogen war. Die Enden waren abgerundet, gewöhnlich etwas dünner als der übrige Teil des Bakteriums. Durch dieses Aussehen erinnerten die Formen vielfach an Vibrionen, die wenig Krümmung zeigten. Der Vibrionentypus war aber nicht selten sehr deutlich ausgebildet und in Präparaten von manchen Kulturen an allen Formen erkennbar (Taf. II, Fig. 15). Je typischer er wurde, um so dicker erschienen die Formen.

Neben diesen Vibrionenformen fanden sich in den Zuckeragarkulturen aber auch gerade Stäbchen, die manchmal so kurz waren, daß sie an Influenzabacillen erinnerten; manchmal waren sie wieder etwas dicker; oft näherten sie sich Kokkenformen. Häufig konnte man aber auch an diesen kurzen Formen noch deutlich erkennen, daß der mittlere Anteil des Bakterienkörpers dicker war als die Enden. Dadurch entstanden Gebilde, die den sogenannten Kipfformen der echten Vibrionen glichen.

Im großen und ganzen selten fanden sich in den Präparaten Formen, die gegen die Enden zu keulenförmig oder pfeilspitzenartig angeschwollen erschienen. Meist handelte es sich dann schon um Fäden.

In älteren Kulturen sah man daneben noch Formen ohne deutliche Begrenzung, detritusähnlich, oder aufgeblähte Gebilde (Taf. II, Fig. 16).

Die Formen lagen einzeln oder zu zweit, dann aber meist derart, daß sie eine mehr oder weniger ausgebildete S-Form zeigten. Diese S-Formen wurden um so typischer, je deutlicher der Vibrionentypus ausgebildet erschien, und fanden sich in vielen Kulturen in außerordentlich großer Menge. In solchen Fällen sah man dann die vibratorienähnlichen Formen häufig in jener fischzugartigen Stellung zueinander gelagert, wie sie für die echten Vibrionen beschrieben ist. Auch fanden sich dann immer auch Verbände vor, die teils mehr oder weniger deutlich gebogene Fäden bildeten, teils aber typischen, verschieden langen Spirillen glichen mit ungleich steilen Windungen (Taf. II, Fig. 15).

Der Vibrionentypus war am schönsten in jenen Zuckeragarkulturen sichtbar, die bei niederen Temperaturen (Eiskasten und 21° C) aufbewahrt wurden und auf Zuckeragarplatten, die unter Wasserstoffatmosphäre bei 37° C durch einige Tage gestanden hatten (Taf. II, Fig. 15).

Kulturen in serumhaltigen Nährböden (Hydrokelen- oder Ascitesflüssigkeit) zeigten meist keine sehr schönen vibratorienähnlichen Formen.

Daß jedoch die Art des Nährbodens einen besonderen Einfluß auf die Bildung der verschiedenen Formen ausübt, sahen wir nicht. Auch die Reaktion des Nährbodens war dafür belanglos.

Mit der Zunahme des Alters der Kulturen vermehrten sich auch jene Formen, die als detritusähnliche und geblähte bezeichnet worden waren (Taf. II, Fig. 16).

Das Bakterium färbte sich mit den gewöhnlichen Anilinfarben nicht allzu stark; am besten tingierten es Fuchsinlösungen, sehr schlecht hingegen Methylblaulösungen. In so gefärbten Präparaten waren die Formen oft kaum mehr erkennbar, selbst dann nicht, wenn es sich um junge Kulturen gehandelt hatte. Bei Anwendung der Gramschen Methode wurde das Bakterium rasch und gleichmäßig entfärbt. Es war dabei gleichgültig, ob wir alte oder ganz junge (12-stündige und jüngere) Kulturen dafür benutzt hatten.

Ältere Formen färbten sich durchschnittlich blaß, doch sah man auch in jungen Kulturen häufig Formen, deren mittleres Stück viel

schwächer gefärbt oder überhaupt ungefärbt erschien. Manchmal erinnerten diese schlecht tingierten Stellen an kleinste Vakuolen, ganz ähnlich jenen, die man beim *Vibrio* der Cholera finden kann.

Bei Behandlung der Präparate mit Jod oder Lugolscher Lösung blieben alle Formen gleichmäßig hellgelb. Niemals sahen wir Blau- oder Braunfärbung, auch dann nicht, wenn die Reaktion des Nährbodens eine geänderte war.

Das Bakterium zeigte Eigenbewegung. Diese war in den Kulturen leicht erkennbar, die Formen schossen meist rasch durch das Gesichtsfeld.

Sporen sahen wir niemals.

### Kulturelles und biochemisches Verhalten.

Das Bakterium war ein streng anaërober Mikroorganismus. Unsere Versuche, es unter aëroben Verhältnissen zum Wachstum zu bringen, schlugen alle fehl.

Oberflächenkolonien auf Agarplatten mit Zusatz von 1 Proz. Traubenzucker (Wasserstoffatmosphäre) waren zart. Isolierte Kolonien blieben klein, meist erreichten sie kaum mehr als Punktgröße, waren rundlich und grau glänzend, mit ziemlich dichtem, im durchfallenden Lichte bräunlich aussehendem Zentrum. Bei mikroskopischer Betrachtung erschienen die Kolonien hell, im Zentrum gelblich-braun. Sie waren fein gekörnt, ihr Rand war unscharf und aufgefaserst, ihr zentraler Teil zeigte häufig schollige Auflagerungen. Isolierte Kolonien waren im allgemeinen schwer erhältlich. Gewöhnlich zeigten die Platten in den ersten Strichen einen hauch- oder schleierartigen grau glänzenden Ueberzug ohne scharfe Konturen, der mikroskopisch aus bräunlichen wolkigen und scholligen Massen zusammengesetzt erschien.

Tiefenkolonien in Agarplatten mit Traubenzuckerzusatz waren wetzsteinförmig oder rundlich und zeigten häufig einen schon makroskopisch erkennbaren nebeligen Hof, der bei Lupenbetrachtung aus feinsten Pünktchen zusammengesetzt erschien. Mikroskopisch (schwache Vergrößerung) waren die Kolonien bräunlich oder schwärzlich-braun, maulbeerartig und zeigten in ihrer Umgebung zahlreiche kleinste, hellbraune oder gelbliche Tochterkolonien mit fein gezähntem Rande, die nach der Peripherie zu an Zahl abnahmen.

Stichkulturen in Agar mit Traubenzucker (1–2 Proz.) zeigten entlang dem Impfstiche Wachstum, das erst ca. 1 cm unterhalb der Oberfläche begann, wenn die Kultur nicht überschichtet worden war. Das Wachstum war ein verschieden üppiges, im allgemeinen jedoch zart, in manchen Kulturen kaum erkennbar. Es zeigte sich als ein den Stichkanal gleichmäßig umgebender grauer, wolkiger Hof ohne scharfe Grenzen. Waren isolierte Kolonien vorhanden, so erschienen sie punktförmig, selten größer und zeigten dann einen zentralen Kern und einen schmalen, unregelmäßigen Hof, der unscharf begrenzt war. Oft waren die Kolonien schwärzlich (Textfig. 4).

Schüttelkulturen in Traubenzuckeragar ließen mehr oder weniger isolierte Kolonien erkennen, die bis über Hirsekorngöße erreichen



Fig. 4.

konnten. Die Kolonien waren rundlich oder auch wetzsteinartig, meist umgeben von einem verschieden breiten, wolkigen oder nebeligen, zarten, grauen Hof mit unscharfer Begrenzung. Nicht selten sah man auch wolkige Kolonien ohne zentralen Kern.

Gasbildung war in den Agarkulturen mit Zusatz von Traubenzucker nicht immer nachweisbar. War sie vorhanden, so war sie spärlich, niemals stürmisch.

Ähnlich war das Wachstum der Kulturen, wenn man an Stelle des Traubenzuckers den Agarnährböden in dem gleichen Verhältnis (1 bis 2 Proz.) Rohrzucker oder Milchzucker zusetzte. In der Ueppigkeit der Entwicklung unterschieden sie sich nicht. Ebenso wenig zeigte die Gasbildung Differenzen, die überhaupt spärlich und nicht immer nachweisbar war.

Agarkulturen ohne Zusatz von Zucker zeigten die gleichen Wachstumsverhältnisse wie die mit Zuckerzusatz.

Stichkulturen in Blutagar (Agar mit Zusatz von sterilem defibriertem Blut) zeigten gutes Wachstum ohne Gasbildung und ohne Veränderung der Farbe des Nährbodens.

Plattenkulturen in Gelatine mit 1 Proz. Traubenzucker, die durch 8 Tage bei 23–24° C gestanden waren, zeigten bis fast kleinlinsengroße Kolonien mit bräunlich-grauem zentralem Kern und verschieden breitem, unscharf begrenztem, wolkigem Hof. Dieser erwies sich bei Lupenbetrachtung aus zahlreichen kleinsten Pünktchen zusammengesetzt. Mikroskopisch sah man bei schwacher Vergrößerung im Zentrum der Kolonie einen maulbeerartigen Kern, um den herum zahlreiche kleinste, runde oder rundliche, scharf und glatt begrenzte Tochterkolonien lagen.

In Gelatine mit Traubenzucker (1 Proz.), die bei 37° C gehalten wurde (Ueberschichtung mit Wasseragar), bildeten sich schon innerhalb von 24 Stunden feinste Flocken in der ganzen Höhe der Nährbodensäule. Nach 48 Stunden hatten sich die Flocken zum größeren Teile zu Boden gesetzt. Oft schon am 3. Tage der Entwicklung war die Gelatine vollständig klar und am Boden der Kultur ein dichter, feinflockiger Satz angehäuft.

Verflüssigung der Gelatine konnte nicht beobachtet werden. Auch Kulturen, die durch längere Zeit bei 37° C gehalten wurden, erstarrten prompt und rasch, wenn man sie in kaltes Wasser stellte.

Gasbildung fehlte häufig.

In Traubenzuckergelatine, die bei 21–22° C gehalten wurde, entwickelte sich bei Stichkulturen ziemlich langsam entlang dem Stichkanale ein weißlich-graues Band, das sich bei Lupenbetrachtung aus kleinsten rundlichen Kolonien zusammengesetzt erwies; waren die Kolonien besser isoliert, so erreichten sie mehr als Stecknadelkopfgröße und waren scharf begrenzt, rundlich.

In Schüttelkulturen hatten gut isolierte Kolonien ein ähnliches Aussehen.

Gasbildung konnte bei 21–22° C nicht erhalten werden.

Eine Verflüssigung der Gelatine erfolgte auch dann nicht, wenn die Kulturen mehrere Monate lang beobachtet wurden.

Dagegen sah man in der Umgebung isolierter Kolonien oder einzelner Partien des Stichkanales früher oder später eine schwärzlich-braune Färbung des Nährbodens auftreten. Sie war am stärksten um die Kolonien und nahm nach außen zu ab. In solchen Fällen zeigten

dann auch die Kolonien selbst einen bräunlichen oder schwärzlich-braunen Farbenton.

In Fleischbrühekulturen mit Zusatz von 1 und 2 Proz. Traubenzucker (langhalsiger Kolben oder Ueberschichtung) war innerhalb der ersten 48 Stunden bei 37° C diffuse, nicht sehr intensive Trübung erkennbar, die auch späterhin nur mehr wenig zunahm. Die Trübung blieb bestehen, die Satzbildung am Boden des Kulturgefäßes war gering. Gasbildung war in diesen Kulturen nicht immer nachweisbar und erfolgte meist erst spät.

In Bouillonkulturen ohne Zuckerzusatz war das Wachstum ähnlich dem in Fleischbrühekulturen mit Traubenzucker, doch weniger üppig. Gasbildung konnte nicht nachgewiesen werden.

In eiweißfreien Nährböden nach Uschinsky erfolgte kein Wachstum.

Bei Zusatz von Pepton (2 Proz.) zu eiweißfreien Nährböden (Uschinsky) bildete sich ein spärlicher wolkiger Bodensatz, der nur aus Bacillen bestand; Gasbildung erfolgte nicht, doch ließ die Kultur deutlichen Geruch nach Schwefelwasserstoff erkennen.

Auch bei Zusatz von Mannit (2 Proz.) zu Uschinsky-Nährlösung erfolgte Wachstum, allerdings spärlicher als bei Peptonzusatz.

Bei Zusatz von Traubenzucker (2 Proz.) zu eiweißfreier Nährlösung von Uschinsky konnte erst nach einigen Tagen geringe, aber sichere Entwicklung ohne Gasbildung nachgewiesen werden: In den Kulturen bildete sich ein geringer Bodensatz, der nur aus den Bacillen bestand.

In Milchkulturen, die in langhalsigen Kolben angelegt waren, erfolgte langsames Wachstum; erst nach vielen Tagen zeigten sich die ersten Veränderungen, indem unter Gerinnung der Milch sich allmählich eine helle Zone unter der Rahmschicht bildete. Die Veränderungen nahmen zu und schließlich boten die Kulturen nach mehreren Monaten folgendes Aussehen: Unter der Rahmschicht folgte eine breite Zone fast klarer, gelblicher oder rötlich-gelber Flüssigkeit, während den Boden des Kölbchens ein in Auflösung begriffenes Coagulum bedeckte. Beim Schütteln der Kultur trübte sich die klare Flüssigkeitsschicht rasch. Ein ähnliches Aussehen zeigten auch die in Erlenmeyers Kolben angelegten Kulturen. Bei nicht zu alten Kulturen, bei denen das Gerinnsel noch zum größeren Teile erhalten war, sah man an der von den Wänden retrahierten Mantelfläche des Coagulum radiär nach oben zulaufende tiefe Sprünge und Furchen. Schon geringes Schütteln genügte, um solche Gerinnsel zum völligen Zerfall zu bringen.

Es erfolgte demnach in Milchkulturen langsame Gerinnung mit Auflösung des Gerinnsels. Gasbildung konnte nicht immer und dann nur in geringer Menge beobachtet werden; sie äußerte sich dadurch, daß man in älteren Kulturen unterhalb der gut schließenden Rahmschicht eine meist kleinere Gasblase nachweisen konnte oder daß man beim Schütteln nicht zu alten Kulturen von dem in Zerfall begriffenen Gerinnsel in spärlicher Menge Gasblasen zur Oberfläche aufsteigen sah.

Manchmal unterblieb in Milchkulturen die Gerinnung vollständig, während Gasentwicklung stattgefunden hatte; am besten konnte man dies in jenen Kulturen beobachten, die in hohen Eprouvetten angelegt und überschichtet wurden.

In erstarrter Hydrokelen- oder Ascitesflüssigkeit erfolgte ziemlich rasch Wachstum entlang des Impfstiches, entweder als gleichmäßiges, wenig üppiges Band oder in Form kleiner, dicht stehender



Einzelkolonien. Nach einiger Zeit zeigte sich im Stichkanale entlang des Impfstiches eine mehr oder weniger intensive Braunfärbung. Bei Lupenbetrachtung zeigten die Einzelkolonien einen kleinen, zentral gelegenen Kern und einen hellen, unregelmäßigen Hof.

Niemals sahen wir in diesen Kulturen Gasbildung und niemals Verflüssigung, auch nicht, wenn die Kulturen durch viele Monate beobachtet wurden (11 Monate lang).

In Gehirnnährböden nach v. Hibler erfolgte Schwärzung ohne Gasbildung und ohne Verflüssigung.

Schwefelwasserstoff konnte in Zuckerfleischbrühekulturen immer in reichlichster Menge nachgewiesen werden, ebenso Milchsäure und Buttersäure, während Essigsäure in diesen Kulturen nur in Spuren vorhanden war.

Auch Aethylalkohol konnte in reichlicher Menge in Traubenzuckerbouillonkulturen nachgewiesen werden, Aceton und Indol jedoch niemals.

Tabelle.

Fleischbrühe mit 1 Proz. Traubenzucker				
Alter:	4 Tage	8 Tage	13 Tage	21 Tage
Reaktion:	alkalisch	alkalisch	alkalisch	sauer
Schwefelwasserstoff:	sehr reichlich	sehr reichlich	sehr reichlich	sehr reichlich
Indol:	negativ	negativ	negativ	negativ
Aethylalkohol:	reichlich	reichlich	reichlich	reichlich
Aceton:	negativ	negativ	negativ	negativ
Essigsäure:	"	Spur	Spur	"
Milchsäure:	spärlich	reichlich	reichlich	reichlich
Buttersäure:	reichlich	"	"	"

Die Untersuchung einer Milchkultur (langhalsiger Kolben), die durch 6 Monate bei 37° C stehen geblieben war, ergab: Saure Reaktion der Milch und deutlichen Geruch nach Käse (Gorgonzola-Käse), reichlich Schwefelwasserstoff, Spuren von Indol und Milchsäure und reichlich Buttersäure. Essigsäure, Alkohol und Aceton fehlten in der Milchkultur.

(Fortsetzung folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Beitrag zur Kenntnis des *Streptococcus mucosus capsulatus*.

[Aus dem pathologischen Laboratorium des Mt. Sinai-Hospitals,  
New York.]

Von Dr. Leo Buerger.

Obschon eine ziemliche Anzahl von Berichten über das Vorkommen von eingekapselten Streptokokken in der Literatur vorhanden ist, scheint man doch über die Einteilung solcher Organismen uneinig zu sein. In einer früheren Arbeit über Kapselfärbung und Morphologie gewisser eingekapselter Organismen (1) habe ich Gelegenheit gehabt, eine Anzahl den Bakterien eigentümlicher Hüllen, sowie den morphologischen Wechsel unter verschiedenen Einflüssen, kulturellen und anderweitigen, zu studieren. Es wurde auf die Kapselform hingewiesen, die gewissen pyogenen Streptokokken, Pneumokokken und einer anderen Art Streptokokken eigentümlich ist, welche von einer schleimigen

Hülle umgeben sind, nämlich den *Strept. mucosus capsulatus*. Ob diese letzteren Organismen eine besondere Art darstellen, wird von vielen Autoritäten bezweifelt. Es läßt sich darüber streiten, ob sie mit den gewöhnlichen Streptokokken oder mit Pneumokokken in eine Reihe zu stellen sind, oder ob man sogar einige Unterarten von denselben zu unterscheiden hat. Es ist mir gelungen, eine Anzahl dieser Organismen zu isolieren, sowohl im Verlaufe der täglichen bakteriologischen Arbeit als auch beim Studium über das Vorkommen von Pneumokokken im normalen Munde (2). Es ist nun meine Absicht, diese Organismen genau zu schildern, sowie die Frage ihrer besonderen Art zu erörtern; fernerhin ihre Beziehungen zu den gewöhnlichen Streptokokken und Pneumokokken zu besprechen, und endlich eine Uebersicht von Berichten über ähnliche Organismen aus der Literatur zu liefern, sofern solche Berichte hierher gehören. Um späterhin Wiederholungen bei der Schilderung der von mir zu besprechenden Organismen und ihrem Vergleich mit den in der Literatur niedergelegten Daten zu vermeiden, gebe ich zunächst eine kurze Literaturübersicht.

Besser (3) beschreibt in einer Arbeit über die Bakterien der gesunden menschlichen Luftwege Streptokokken, die dem *S. pyogenes* ähnlich waren und häufig auf Präparaten von tierischen Geweben eine Kapsel zeigten. Post mortem wurden die Organismen von dem Bronchialschleim in 2 Scharlachfällen gewonnen. Auf Agar waren die Kolonien einem üppig wuchernden *Streptococcus* ähnlich. Sie waren stark pathogen für Mäuse und Kaninchen. Die 15. Generation war noch virulent. Er nennt diesen Organismus: „der *Streptococcus pyogenes* ähnliche Coccus“.

Ein Jahr darauf (1890) isolierte Bonome (4) seinen „*Streptococcus der Meningitis cerebrospinalis epidemica*“. Er fand diesen in dem meningealen Exsudat bei Cerebrospinalmeningitis während einer Epidemie in der Umgegend von Padua. Die kulturellen Eigenschaften waren, wie folgt: Auf Agar wuchsen leicht erhabene, beinahe durchsichtige Kolonien; auf Gelatine kein Wachstum bei 18–20°. Auf Blutserum kein Wachstum, weder in flüssigem oder festem Nährboden; ebenso negativ auf Kartoffeln. Im Blut infizierter Kaninchen zeigten sich Coccus-, Diplococcus- und Kettenformen von einer schlecht gefärbten Kapsel umgeben. Im Kulturboden war keine Kapsel nachweisbar, obwohl eine ungefärbte Zone um den Organismus gewöhnlich zu sehen war. Mäuse waren sehr empfindlich und starben in ca. 48 Stunden, mit lokalem Oedem, gelatinösem Exsudat und mit typischen Formen im Blute. Verfasser charakterisiert diese Kokken, wie folgt: „Die Differentialkennzeichen bestehen nicht sowohl in der etwas runderen Form und in der Anordnungsweise in Ketten, Erscheinungen, die unter gegebenen Umständen auch bei Pneumokokken und Meningokokken vorkommen können, als vielmehr in dem knäuelartigen Aussehen der isolierten Kolonien auf der Agarplatte, in der Unfähigkeit, im Blutserum zu wachsen, in der Schwierigkeit, sich in mehr als 5–6 Generationen zu wiederholen, in dem Fehlen der klassischen Septikämie, welche der *Diplococcus pneumoniae* bei den weißen Mäusen erzeugt, in der konstanten Septikämie mit eingekapselten Ketten beim Kaninchen und in der Erzeugung gelatinöser Transudate, sowohl beim Kaninchen als bei den Mäusen, Meerschweinchen und Hunden“.

Eine vielleicht ganz andere Art eingekapselter Streptokokken bietet der sogenannte „*Leuconostoc*“. Liesenberg und Zopf (5) haben

gewisse parasitäre Streptokokken aus den Gallertmassen des Rühen- und Rohrzuckersaftes isoliert. Sie wachsen paarweise oder in Ketten und sind von großen Hüllen umgeben, falls man sie auf zuckerhaltigen Nährböden wachsen läßt. Auch eine nicht eingekapselte Form ist beschrieben worden, die „Varietas nuda“, morphologisch vom gewöhnlichen *Streptococcus* nicht unterscheidbar. „Auf zuckerhaltiger, schwach alkalischer Nährgelatine im Impfstich gewachsen, stellt eine Reinkolonie in den ersten 10—14 Tagen eine dicke, weißliche Masse dar, welche aus einzelnen, dicht beieinander gelagerten, an der Basis miteinander verschmolzenen Gallertklümpchen besteht, die am Scheitel stark glasartig glänzen, so daß der Gesamteindruck etwa der einer krustenförmigen Kristallisation ist. Während die meisten in den ersten 8 Tagen knorpelartige Beschaffenheit zeigen, elastisch und trocken sind, so daß es mit der Impfnadel kaum möglich ist, kleine Fragmente abzulösen, erweichen die Kolonien in den nächsten Wochen allmählich, nehmen feuchtes Aussehen an und verlieren ihre Elastizität, bis sie schließlich breiartige Weichheit besitzen“. Tierexperimente finden keine Erwähnung.

Kurth (6) hat in seinen Untersuchungen über die Aetiologie der Maul- und Klauenseuche eingekapselte Streptokokken gefunden, welche ausgeprägte Merkmale beim Wachstum in Serum oder serumhaltigen Nährböden zeigten. Auf der Oberfläche von sterilem flüssigen Kalbs serum entsteht eine gelbliche rahmartige Schicht und kann nach 48-stündiger Inkubation etwa 3 mm dick werden. Auf Serumagarplatten werden die Kolonien viel größer als auf einfachem Agar und jede ist von einem Kreis stark lichtbrechender Kügelchen umgeben. Einspritzungen unter die Haut haben bei weißen Mäusen und Meerschweinchen keine Krankheitserscheinungen hervorgerufen. Gefärbte Präparate zeigten Streptokokken, zuweilen verlängerte oder gar spindelförmige, von einer sehr breiten, farblosen Zone umgeben. Kurth nannte ihn den „*Str. involutus*“.

Ähnliche Organismen sind von Sanfelice (7) bei derselben Krankheit und von Behla (8) im Mundsekret von Kindern beobachtet worden.

Seitz (9) beschreibt Streptokokken, die durch die Größe ihrer Kolonien merkwürdig sind. Er nannte ihn „*Maststreptococcus*“, „*Str. aggregatus*“ oder „*Runzelstreptococcus*“. Kolonien auf Agar zeigen vielerlei Formen, von typischen Streptokokken bis zu großen abgeflachten, schleimigen feuchten Massen, Sagokörnern ähnlich. Frühes Runzeligwerden der Kolonien ist typisch. Tierexperimente ergaben unbeständige Resultate. Offenbar besaßen die Organismen eine nur sehr mäßige Virulenz.

Im Jahre 1897 fand Binaghi (10) eingekapselte Streptokokken bei einem Meerschweinchen, welches spontan multiple Lungenabscesse bekam. Seine Organismen wuchsen paarweise oder in Ketten, bildeten getrennte, durchsichtige Kolonien auf Agar und entwickelten sich gar nicht auf Gelatine bei Zimmertemperatur. Meerschweinchen starben innerhalb von ca. 4 Tagen und zeigten ein gelatinös-hämorrhagisches Exsudat an der Impfstelle. Doch konnte er die Organismen auf den geimpften Meerschweinchen nicht wieder gewinnen und die Kulturen selbst waren schnell abgestorben.

Le Roy des Barres und Weinberg (11) erwähnen das Finden eingekapselter Streptokokken von Tavel und Krumbein (12), sowie die Organismen von Bordet (13), welcher helle Kapselzonen um ge-

wisse Streptokokken im Peritonealexsudat von Kaninchen gesehen hat. Ihre eigenen Organismen wurden von einem Fall akuter Septikämie infolge einer infizierten Wunde am Ellenbogen gewonnen. Sie kamen paarweise oder in Ketten vor und waren von einer ungefärbten Zone umgeben. Wachstum wurde beobachtet auf Ascitesbouillon, auf Bouillon, Gelatine (schlecht nach 48 Stunden), Agar, Milch und auf Kartoffeln. Auf Agar entwickelten sich durchsichtige, wässrige Kolonien; Milch kam zum Gerinnen. Der *Streptococcus* blieb 4 Monate lang am Leben in Serumbouillon. Geimpfte Kaninchen starben rasch auch nach kleinen Dosen. Verfasser nennt den Organismus „*Streptococcus auréole*“.

Howard und Perkins (14) isolierten einen *Streptococcus*, den sie aus dem Herzblut, Milz, Peritoneum, salpingo-ovarialem Absceß und rechter Niere eines Peritonitisfalles erhielten, der im Anschluß an einen salpingo-ovariellen Absceß entstanden war. Die Organismen kamen paarweise vor und hatten eine biskuitförmige Gestalt. Sie bildeten Ketten von verschiedener Länge. In tierischen Exsudaten und Blut war eine deutlich färbbare Kapsel vorhanden, die aber in künstlichen Medien (Milch ausgenommen) keine Farbe annahm. Die Kolonien auf Agar, Glycerin oder Glukoseagar waren feucht, durchsichtig und sahen wie Tautropfen aus. In Gelatine und in Bouillon entstanden eben sichtbare Kolonien, auf Kartoffel gar keine. Milch kam nicht zur Gerinnung. Die Organismen waren für Meerschweinchen und Kaninchen virulent. Die Autoren bezeichnen ihn als „*Streptococcus mucosus*“.

In demselben Jahre (1901) beschrieb Lewkowicz (15) einen Coccus, welchen er für den echten Erreger der Dysenterie hielt. Seine Organismen wurden aus den Stühlen von 2 Ruhrkranken sowie aus der Cerebrospinalflüssigkeit eines dritten an komplizierender Dysenterie Leidenden reingezüchtet. Die ersten 2 zeigten den „*Enterococcus*“ (wie ihn der Verfasser nannte) in überwiegender Mehrzahl, der dritte sogar in Reinkultur. Im Stuhl erschienen sie als abgeplattete Diplokokken oder kurze Ketten, aus 4—8 Gliedern bestehend, jedes Paar mit den flachen Seiten gegeneinander. Im Tierkörper hatten diese Diplokokken in der Regel eine breite, leicht färbbare Kapsel. Vom *Pneumococcus* unterscheidet sich dieser Coccus, seinem Entdecker nach, durch die Rundform und die große Breite seiner Kapsel. Schleimige Oberflächenkolonien sind typisch. Weiße Mäuse waren empfindlich, Meerschweinchen starben nur beim Auftreten einer Peritonitis in 5—17 Tagen.

Richardson (16) wählt die Bezeichnung „Pseudopneumokokken“ für gewisse Organismen, die er denjenigen von Binaghi und Howard nahestellt. Er hat sie in 4 Fällen von akuter krupöser Pneumonie isoliert, als runde, eiförmige oder kurze stäbchenförmige Gebilde, paarweise oder in Ketten liegend. Sie zeigten eine Kapsel sowohl in tierischen Flüssigkeiten als auch in Kulturen. Sie wuchsen auf Agar, Glukose-Agar und Gelatine; auf Kartoffel war das Wachstum zweifelhaft. Mäuse und Meerschweinchen starben prompt nach subkutaner und intraperitonealer Einimpfung; Kaninchen dagegen reagierten auf die intravenöse Einspritzung mit keinerlei krankhaften Symptomen. Folgende Merkmale sollen diese Organismen von Pneumokokken unterscheiden: Das üppige Wachstum, die Neigung zur Bildung eines schleimartigen Rasens, das eigentümliche Aussehen in Glukose-Agar-Stichkulturen, das starke Wachstum auf Gelatine und die Beständigkeit der Kapseln. Ver-

fasser erwähnt ferner, daß Atkinson (17) ähnliche Streptokokken gefunden habe.

Die nahe Verwandtschaft zwischen dem *Str. mucosus* und gewissen Pneumokokken ist der Gegenstand einer Abhandlung von Longcope (18). Eigentümliche Pneumokokken wurden aus einem Absceß der Brustwand, bei eitriger Otitis und aus dem Blute bei akuter Pneumonie gewonnen. Lanzettförmige Diplokokken waren zwar vorhanden, doch traten biskuitförmige Diplokokken, lange Ketten bildend, in den Vordergrund. Kapseln zeigten sich in allen Nährböden. Die Kolonien waren in der Regel groß, feucht und klebrig. Kein Wachstum auf Kartoffeln; Mäuse waren empfindlich; Meerschweinchen starben 1–2 Wochen nach einer reichlichen intraperitonealen Einspritzung; Kaninchen blieben nach intravenöser Impfung gesund. Beim Pneumoniefall erschien der Organismus zuerst als *Pneumococcus*, doch zeigten spätere Kulturen die typischen eingekapselten Gebilde des *Strept. mucosus*. Daher meint L., daß letzterer als eine Abart des *Pneumococcus* aufzufassen sei.

Hlava (19) fand Streptokokken mit schleimigen Kapseln im Munde bei Angina phlegmonosa, Diphtherie, Scharlach, Masern u. s. w. Die Kapseln entwickelten sich nur in zuckerhaltigen Nährböden. Der *Streptococcus* zeigte sich rund, eiförmig oder stäbchenförmig. Sein sogenannter *Leuconostoc* war weder für Mäuse noch für Meerschweinchen pathogen. Kolonien im flüssigen Blutserum waren für „schwache“ Kaninchen virulent.

Schottmüller (20) fand einen eingekapselten *Streptococcus* in einem parametrischen Absceß bei Peritonitis, bei otitischer Meningitis, krupöser Pneumonie und Sepsis. Hinsichtlich der Morphologie und kulturellen Eigenschaften hebt er folgendes hervor:

Der *Streptococcus mucosus* bildet auf festen Nährböden Diplokokken, die in Ketten von 10–14 und mehr Gliedern nebeneinander liegen. Die einzelnen Glieder sind  $1,5 \mu$  groß, rundlich und leicht abgeplattet. Charakteristisch ist im gefärbten Präparat eine als Kapsel erscheinende Schleimhülle, die sich in allen Generationen erhält. Sehr charakteristisch ist das Wachstum auf Agaroberfläche. Da zeigt sich nach 24 Stunden ein wasserheller, zusammenhängender, schleimiger, glänzender Belag von fadenziehender Beschaffenheit.

Besonders wird darauf hingewiesen, daß die geschilderten Eigentümlichkeiten durchaus konstant sind.

Neuerdings macht dieser Verfasser in seiner Abhandlung (21) auf die Rolle des *Streptococcus mucosus* in der Aetiologie der akuten krupösen Pneumonie aufmerksam. In 5 Fällen der Krankheit fand sich dieser Erreger im Blute intra vitam. In einem 6. Fall fand man ihn im Eiter aus der Pleurahöhle. S. schließt daraus, daß dieser Erreger für einen Teil der Fälle von krupöser Pneumonie verantwortlich sei. Er unterscheidet sich vom *Pneumococcus* durch die beständige Anwesenheit der Schleimhülle, durch die Form und Größe und eigenartiges Wachstum auf Agar.

Neumann (22) fand ähnliche Organismen im Rachennasenraum. „Das auffallendste Merkmal, woran der *Streptococcus* sofort erkannt werden kann, sind die glasigen, wassertröpfchen-ähnlichen, hellen durchsichtigen Kolonien auf Gelatine und Agar; ferner die wohlausgebildeten, dicken Hüllen und die ziemliche Größe der einzelnen Kokken.“ Auf Löfflers Nährboden und auf Kartoffel wuchsen sie schlecht. Milch

gerann. Die Organismen starben nach etwa 2 Monaten. Sie waren stark pathogen für weiße Mäuse, Meerschweinchen und Kaninchen, welche nach 2—4 Tagen zu Grunde gingen.

Endlich erwähnt Heim (23) in einem Bericht über die Lebensfähigkeit des *Streptococcus mucosus* einen Organismus, welcher dem Schottmüllerschen entspricht. H. fand, daß sein Stamm im trockenen Zustande auf Seidenfäden, die mit Blut getränkt waren, 5 Monate lang lebte.

Aus meinen eigenen Beobachtungen geht für mich klar hervor, daß es eingekapselte Streptokokken gibt, welche mit Pneumokokken und gewöhnlichen Eiterstreptokokken gemeinschaftliche Züge haben, jedoch genügend Eigentümliches besitzen, um als besondere Art zu gelten. Ich werde sie im folgenden als „*Streptococcus mucosus capsulatus*“ bezeichnen.

Quelle der Organismen. Es wurden 12 verschiedene Stämme untersucht, die folgendermaßen gewonnen waren:

S. m. c.<sup>1)</sup> I stammte in Reinkultur aus der Cerebrospinalflüssigkeit in einem Falle von akuter Meningitis. Die Lumbalpunktion wurde unmittelbar nach dem Tode ausgeführt. Eine Autopsie fand nicht statt.

S. m. c. II fand sich in Reinkultur im Herzblut einer Maus, die offenbar spontan von diesem Organismus infiziert wurde. Die Autopsie ergab keine anderweitige Todesursache als die Septikämie. Die Bauchhöhle enthielt eine Menge schleimartiger Flüssigkeit. Ausstrichpräparate zeigten das reichliche Vorhandensein des Organismus. Die Lungen waren hyperämisch und ein geringes Exsudat in der Pleura enthielt ebenfalls die Streptokokken.

S. m. c. III—VIII und X—XII wurden aus der Mundhöhle und dem Rachennasenraum von Spitalkranken gezüchtet. Die meisten dieser Organismen wurden isoliert als Nebenbefund gelegentlich des Studiums über das Vorkommen der Pneumokokken in der Mundhöhle (2).

S. m. c. IX stammte aus dem Munde einer älteren, an akuter krupöser Pneumonie leidenden Frau. Daneben fand man noch sowohl gewöhnliche Pneumokokken als auch solche von „schleimigem Typus“<sup>2)</sup>.

Morphologie. Die morphologischen Beobachtungen wurden an den verschiedenen Nährböden am Blute und Exsudate von Versuchstieren angestellt. In dem Falle, der das Exsudat von Menschen betraf und in einem weiteren No. II (bei einer Maus) konnten auch die Ausstrichpräparate verwendet werden. Wie beim *Pneumococcus*, finden wir hier Schwankungen der Formen, die nicht nur vom Stamme, sondern auch von zahlreichen Wachstumsbedingungen abhängig sind. So scheint z. B. die Beschaffenheit des Nährbodens, das Alter der Kultur und die Zahl der Uebertragungen auf die Morphologie einen Einfluß auszuüben. Auch hier müssen wir die typischen Formen im Blute und in Exsudaten der infizierten Tiere suchen, sowie in den früheren Generationen auf den günstigsten Nährböden.

Im Blute, im peritonitischen oder subkutanen Exsudate von Mäusen oder Meerschweinchen finden wir Diplokokken oder Ketten (aus Paaren gebildet) von einer breiten, leicht färbbaren Hülle umgeben. Die Einzelglieder haben Kugel- oder Semmelform, die flachen Seiten ein-

1) S. m. c. = *Streptococcus mucosus capsulatus*.

2) Diesbezgl. s. Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XXXIX. p. 222. Ferner The Journ. of Exp. Med. Vol. VII. No. 5. p. 521 (the „large mucoid type“ of *Pneumococcus*).

ander zugekehrt; seltener sind sie etwas verlängert, ähnlich der Lanzettform. In der Regel ist ein *Diplococcus* nebst seiner Kapsel größer als der gewöhnliche *Pneumococcus*. Doch kann die „große, schleimartige Form“ des letzteren an Größe den *Streptococcus* übertreffen. Die häufigste Form des *Diplococcus* ist die Semmelgestalt, umgeben von einer breiten, etwas elliptischen oder fast kreisförmigen (eigentlich kugelförmigen) Kapsel. Die Ketten enthalten 4—8 Glieder; seltener 10—12 und darüber. In der Regel überwiegen Diplokokken mit einigen kurzen Ketten. Das Blut einer weißen mit S. m. c. I infizierten Maus zeigte fast nur Diplokokken; es waren bloß einige 4-gliedrige Ketten vorhanden. Das Verhältnis von Ketten und Diplokokken wechselt je nach dem Stamm. So zeigen manche Organismen ebenso viele kurze Ketten (4—10) wie Diplokokken. Charakteristisch für den S. m. c. gegenüber dem *Pneumococcus* ist das konstante Auftreten von Ketten im Blute der infizierten Tiere.

Typisch für diesen Organismus ist die Gestalt seiner Hülle. In Tierexsudaten und Blut kann die Kapsel auch nach der Gramschen Methode gefärbt werden, namentlich, falls man mit einer starken wässerigen Fuchsinlösung nachfärbt. Der Erreger ist grampositiv, die Kapsel gramnegativ. Schöne und deutlichere Kapseln lassen sich mit den meisten Kapselfärbemethode nachweisen. Diplokokken und Ketten sind von breiten, wohlbegrenzten Hüllen umgeben. Die Kapselumrisse um die Ketten herum zeigen keine von den für Pneumokokken so charakteristischen Einschnürungen zwischen den Paaren. (Forts. folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Ueber die Transmission der Syphilis auf das Kaninchen.

[Hygienisches Institut der Königl. Universität Turin. Direktor: Prof. Dr. L. Pagliani.]

Vorläufiger Bericht.

Von Privatdozent Dr. E. Bertarelli, Assistent.

Mit 6 Figuren.

Die Versuche, die Syphilis auf das Kaninchen zu übertragen, sind nicht neuesten Datums. Die früheren übergehend, genüge es, hier daran zu erinnern, daß Siegel in diesem Jahre seine betreffenden Versuche veröffentlicht hat, die auch von Erfolgen begleitet gewesen sein sollen. Wie und warum diese Resultate positiv sein sollen, ist schwer zu sagen, so daß Neisser in seiner letzten Arbeit über die Syphilis energisch behauptet, daß jede Uebertragung der Syphilis auf das Kaninchen unmöglich ist.

Es ist auch leicht begreiflich, daß es schwierig ist, ein positives Resultat nachzuweisen, denn, hat man keine empfänglichen Affen zur Verfügung, so fällt es schwer, darzutun, wenn nach Inokulation syphilitischen Materials ins Kaninchen eine Läsion entsteht, daß dieselbe syphilitisch ist, und so wird sich die Erörterung darauf beschränken, den Wert der Läsion aus ihren histologischen Merkmalen abzuleiten.

Die Uebertragung auf die Affen könnte dem ein Ende machen, doch wissen alle, daß diese Tiere nicht jedem Laboratorium zur Verfügung

stehen. Benützt man dann niedere Affen, so kann man damit mehr als einem Mißerfolge ausgesetzt sein. Ich erinnere hier daran, das es mit zwei in unserem Institut befindlichen *Macacus cynomolgus*, die nicht jung waren, und so für empfänglich gehalten werden konnten, auf keine Weise gelang, syphilitische Erscheinungen zu erhalten<sup>1)</sup>.

Daraus ergibt sich also die große Schwierigkeit, auch im Falle ein scheinbarer Erfolg bei Syphilisübertragung aufs Kaninchen erhalten wird, nachzuweisen, daß die erhaltenen Veränderungen wirklich syphilitisch sind.

Die Entdeckung der *Spirochaete pallida* durch Schaudinn und Hoffmann eröffnet auch auf diesem Felde der Kontrolle einen neuen Weg, um so mehr als alle Biologen dafür eintreten, daß, wenn auch die letzten definitiven Beweise fehlen, doch die *Spirochaete pallida* für den ätiologischen Erreger der Syphilis gehalten werden müsse.

Mich auf diesen Boden stellend, nahm ich mir also vor, zu beobachten, was mit den ins Kaninchen inokulierten Spirochäten geschieht. Ich bediente mich dazu der Silbernitrat-Imprägnationsmethode. Ich war auf jeden Fall sehr weit davon entfernt, an eine mögliche Uebertragung der Syphilis auf Kaninchen zu denken. Ich versuchte es eben, und zwar unter Verhältnissen, die es mir gestatteten, in den Schnitten mit Leichtigkeit das eventuelle Auftreten der Spirochäten zu verfolgen. Aus diesem Grunde wählte ich zu meinen Innesten die Augenvorkammer und die Hornhaut, die sich eben zur Inokulation am besten eignen.

Mein erster Versuch fand am 31. Jan. 1906 an einem ca. 2 kg wiegenden Kaninchen statt.

Als Innestmaterial diente ein Initialsyphilom, das sich seit 3 Tagen entwickelt hatte und einem Individuum ausgeschnitten worden war, das absolut die Abortivkur versuchen wollte. Ich schabte nun aus dem tiefen Teile des Syphiloms Material aus, das in einem kleinen Mörser bis zur vollständigen Verbreiung zerknetet worden war. Mit einem Graefeschen Messer machte ich dann am rechten Auge des Kaninchens im Zentralteil der Hornhaut einige leichte Ritze.

Hierauf fügte ich der übrigbleibenden zerknetzten Portion des Syphiloms ein wenig physiologische Lösung hinzu und zerknetzte von neuem, da ich die Emulsion so fein haben wollte, daß sie durch die feine Kanüle einer kleinen Pravazschen Spritze passieren konnte. Mit der Nadel nahm ich dann eine kleine Punktur an der Hornhaut des linken Auges vor, damit daraus ein wenig Vorkammerwasser ablaufen konnte. Mit der Pravazschen Spritze inokulierte ich dann ganz in der Nähe des Limbus ein Tröpfchen des zerknetzten Syphiloms in die Vorkammer.

Das Syphilom selbst habe ich nicht untersucht. Aus den von anderen ausgeführten Ausstrichpräparaten ergab sich, daß Spirochäten darin vorhanden waren, ob wenige oder viele, kann ich nicht sagen.

Es sei hier gleich gesagt, daß im rechten Auge keine weiteren Erscheinungen auftraten. Nach einigen Tagen war das durch die Ritze erzeugte Geschwür kaum noch sichtbar, und nach 15 Tagen konnte man kleine Narbenflecken wahrnehmen. Auch nach 45 Tagen war keine andere Verletzung aufgetreten. Das Auge wurde abgetragen und diente dann zu den histologischen Prüfungen.

Am linken Auge wurde einige Tage lang eine diskrete Reaktion beobachtet; die Gefäße der Lederhaut waren nahe bei der Inokulations-

1) Bericht an die R. Accad. d. Med. Sitzung vom 6. März 1906.



stelle hyperämisch, die Hornhaut erschien leicht verdickt, und ein kleines Geschwür war deutlich sichtbar. Nach 15 Tagen jedoch schien der Prozeß in vollständigem Rückgang zu sein.

Am 10. Febr. 1906 bot das Auge jedoch unzweifelhafte Zeichen einer Erkrankung, die dazu hinneigte, sich auszubreiten. Die Lederhaut hatte in der ganzen, der Innestelle nahestehenden Zone hyperämisches Aussehen. Die Hornhaut wies ein Geschwür auf, das einen Durchmesser von ca. 3 mm hatte. Das Geschwürgewebe erschien ziemlich erhöht; der Limbus war entzündet; der ganze Bulbus war gespannt und hervorragend.

Am 13. Febr. war die Läsion deutlich vergrößert. Man beachte, daß jede wirkliche Trübung im Zentralteil der Hornhaut fehlte, sie erschien kaum etwas verschleiert und hervorragend. Die Veränderung der Hornhaut hatte sich inzwischen bedeutend ausgebreitet bis zu einem Maximaldurchmesser von ungefähr 6 mm; man sah da eine stark hervorragende unregelmäßige Proliferation, mit ebenfalls unregelmäßigen Rändern von ungefähr viereckiger Form.

Am 13. Febr. nahm ich das Auge heraus. Wenngleich nun die Läsion (wie von vielen der das Laboratorium frequentierenden Aerzte beobachtet wurde) stark ins Auge fiel und einen begründeten Verdacht auf eine selbst spezifische Erkrankung zu erregen im stande war, so war ich doch so weit entfernt, an eine syphilitische Läsion zu glauben, daß ich es völlig unterließ, eine Uebertragung auf die Hornhaut anderer Kaninchen zu versuchen. Ein an und für sich schweres Versehen, das sich aber erklären läßt angesichts der Mißerfolge der anderen Forscher bei den Syphilisationsversuchen des Kaninchens.

Das Auge wurde sodann in Alkohol erhärtet, ein Teil wurde, wie gewöhnlich, eingebettet, und einige von verschiedenen Stellen der Hornhaut genommene Stückchen wurden mit dem Silbernitratverfahren behandelt. (Ich habe die von Volpino<sup>1)</sup> und mir in unserem zweiten Bericht über die *Spirochaete pallida* beschriebene Methode angewandt. Auch in diesem Falle habe ich die Güte der Methode feststellen können, die es gestattet, auch bei der Hornhaut feinste Schnitte zu erhalten.)

Das Ergebnis der mikroskopischen Prüfung der mit Silbernitrat behandelten Stücke läßt sich, wie folgt, zusammenfassen:

In der ganzen Zone der verletzten Hornhaut und auch außerhalb derselben Myriaden von Spirochäten, die alle Merkmale der *Sp. pallida* besitzen. In einigen Strecken der Läsion ist die Struktur der Hornhaut fast verschwunden; es findet eine lebhaft lymphocytäre Infiltration statt. Dieselbe dringt in der Hornhaut sehr weit vor und entfernt sich ziemlich bedeutend von der makroskopischen Läsion.

Die Spirochäten sind außerordentlich zahlreich und von wirklich auffallender Klarheit.

Sie folgen der Richtung der Bindegewebslamellen und finden sich zumeist isoliert, zuweilen aber auch in Gruppen.

Selbst jenseits der Läsion sind sie noch aufzufinden. Selbst da, wo jede Hornhautinfiltration fehlt, sind immer noch Spirochäten sichtbar. An den Stellen aber, wo die Veränderung am stärksten ist und die Infiltration am deutlichsten hervortritt, sind die Spirochäten selten, während da, wo die Läsion weniger deutlich hervortritt und in der Nähe der Stellen, an denen die Hornhaut im Begriffe ist, wieder normal zu

1) Bertarelli u. Volpino, Centralbl. f. Bakt. Bd. XLI.

werden, die Anhäufung der Spirochäten zuweilen geradezu enorm ist. Nicht selten beobachtet man deren 100 in einem einzigen mikroskopischen Felde.

Die Spirochäten fehlen in der Iris, in der Lederhaut und in der Linse. In dem schwürigen Teil beobachtet man auch einige seltene Bakterienformen, die jedoch nicht mehr angetroffen werden, sobald man sich von der Zentralzone der erkrankten Stelle entfernt, während dagegen in diesen Zonen die Spirochäten zahlreich vorhanden sind.

Wie bereits gesagt wurde, treten sie in typischer Form auf. Ganz deutlich kann man wahrnehmen, wie sie der Direktion der Bindegewebsfibrillen folgen und zwischen sie hineintreten.

Viele Formen sind von ganz interessantem Aussehen. So kann man eine bedeutende Anzahl Spirochäten beobachten, die zu zwei und zwei ineinander verschlungen sind, Windung in Windung, oder nur streckenweise aneinander gebunden, während die übrigen Teile sich schon freigemacht haben. Zuweilen sind die Spirochäten kaum an einem Ende ineinander verschlungen, zuweilen aber auch bis zur Mitte des Körpers, und zwischen diesen Extremen finden sich dann alle möglichen Abstufungen.

Man empfindet hier den Eindruck, als ob es sich nicht um eine einfache Nebeneinander-Lage, sondern um einen wirklichen longitudinalen Vervielfältigungsprozeß handle.

Allerdings ist es nicht leicht, hierfür einen absolut erschöpfenden Beweis zu liefern. Der optische Eindruck jedoch, den man beim Erscheinen dieser Formen in sehr feinen Schnitten ( $2-3\ \mu$ ) erhält, bei denen jede Uebereinander-Lage von Bildern ausgeschlossen ist, ist der, daß es sich dabei um eine wirkliche longitudinale Vervielfältigungserscheinung<sup>1)</sup> handle.

Daß man diese Erscheinung in ihrem Fortgange fassen kann, darf nicht wundernehmen bei einer Läsion, bei der wir uns einer wirklich enormen Vervielfältigung der Spirochäten gegenüber befinden, ähnlich derjenigen, die man in einer Kultur erlangen würde.

Ich habe versucht, mit Hilfe der Photographie einige dieser Bilder zu erfassen, und wenngleich es schwierig ist, gleichzeitig auch die in Längsspaltung befindlichen Formen zu treffen, so kann ich doch einige Bilder vorlegen, die die nachfolgenden Momente dieser Vermehrung, wenn auch sehr blaß und unvollständig, darstellen.

Es läßt sich nun hier eine interessante Frage nicht umgehen, die die histologische Natur der Verletzung anbetrifft. Kann man nämlich, jede ätiologische Betrachtung beiseite lassend, behaupten, daß die beim Kaninchen beobachtete Verletzung auch wirklich ein wahres Initialsyphilom ist? Und wie dem auch sei, weist die Läsion die wahren und eigentümlichen Merkmale einer syphilitischen Erkrankung auf?

Ich habe mit den gewöhnlichen Verfahren — Pappenheim, Polychromblau, Giemsa, van Gieson — farbige Präparate hergestellt.

Dabei ergaben sich für die Läsion folgende Merkmale: Schon bei geringer Vergrößerung kann man leicht feststellen, daß die Läsion ihren Sitz dem Corneallimbus zu hat. Die Iris ist auch in den Prozeß hineingezogen und weist auf der Limbusstrecke Verwachsungen mit der Hornhaut auf.

<sup>1)</sup> Neuerdings hat Zettnow (Zeitschr. f. Hyg. Bd. LII. Heft 3) analoge Formen der *Spirochaete Obermeyer*i beschrieben. Er hält diese Formen jedoch einfach für Anhäufungen von Spirochäten.

In dem veränderten Teile beobachtet man vor allem eine erhöhte Zone, die über die Ränder der normalen Hornhaut hervorragt. Das Hornhautepithel fehlt, und vollständig verändert ist die Struktur der

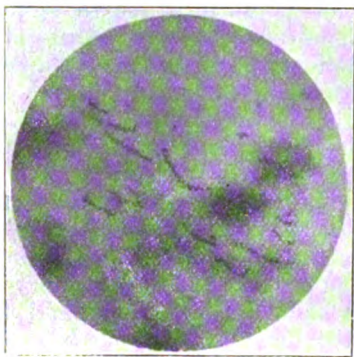


Fig. 1.

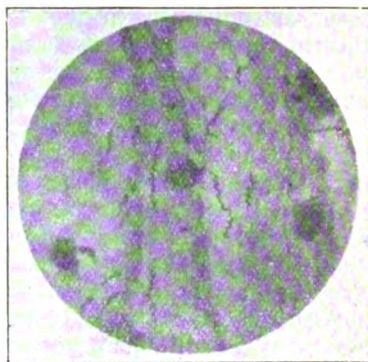


Fig. 2.

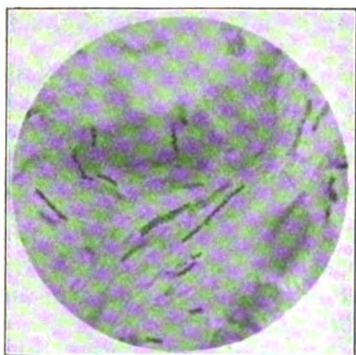


Fig. 3.

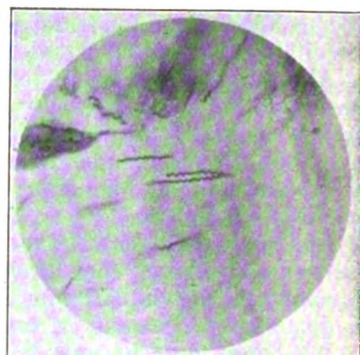


Fig. 4.

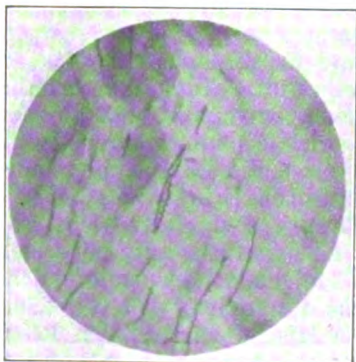


Fig. 5.

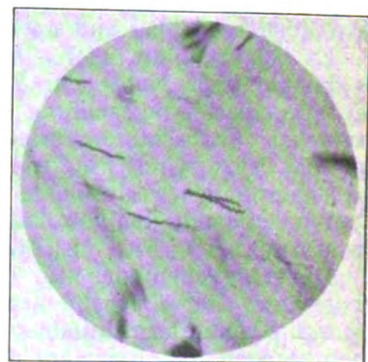


Fig. 6.

Fig. 1—2. Spirochäten in der Hornhaut.

Fig. 3—6. Verschiedene, durch die wahrscheinliche Längsvermehrung erzeugte Uebergangsformen.

Hornhaut selbst. Es fällt nicht schwer, einige kleine Gefäße zu beobachten, die fast das Zentrum der Läsion einnehmen, und sich in der Nähe der Stelle befinden, an der die pigmentierten Zellen der Lederhaut beginnen.

Das Gefäßendothel ist angeschwollen, um die Gefäße herum eine enorme Anhäufung von einkernigen Elementen. Plasmazellen lassen sich nicht vorfinden. Die einkernigen Elemente bilden um die Gefäße herum einen wirklich großen, nodulären Herd, und verbreiten sich in der Hornhaut in geringerer Zahl und weniger dicht angehäuft und infiltrieren sie auf einer ziemlich langen Strecke. In einiger Entfernung vom Limbus beobachtet man natürlich, da die Gefäße fehlen, keine perivaskuläre Form der Infiltration, die hier ihr typisches Aussehen einer lebhaften lymphocytären Infiltration verliert.

Auch die Iris ist in der Nähe der Verwachsungsstellen auf einer kurzen Strecke von Lymphocyten infiltriert.

Daraus ersieht man also, daß die Läsion eine starke Mononukleose lymphocytären Charakters ist, mit deutlicher Tendenz zu perivaskulärer Anhäufung.

Ich behalte mir vor, später anschauliche Photographieen und Figuren des Prozesses zu geben.

Ohne nun behaupten zu wollen, daß es sich hier vom histologischen Gesichtspunkte aus um ein wahres Initialsyphilom handelt, bleibt es doch immer außer Zweifel, daß die Läsion Eigentümlichkeiten aufweist, die sie einem wahren Syphilom nahebringen.

In diesem kurzen Vorbericht will ich mich nicht weiter auslassen. Unzweifelhaft bleibt damit dargetan, daß die Syphilis, wenn auch nur mit einzelnen Lokalisationen und ohne allgemeine Erscheinungen (das Kaninchen hat auch nach Wochen keine angeschwollenen Ganglien, und weist nur eine Verletzung auf, in der sich jedoch keine Spirochäten vorfinden), doch immerhin auf die Hornhaut des Kaninchens übertragen werden kann.

Welches die Umstände sind, die beim Kaninchen das Gedeihen des Virus gestatten, ist heute noch schwer zu sagen. Vielleicht ist es unabweislich, Innestmaterial zu besitzen, das sehr reich an Spirochäten ist, vielleicht auch ist es nötig, daß die Verletzung den Limbus in Mitleidenschaft ziehe. Ich besitze augenblicklich noch andere inokulierte Kaninchen, mit einigen derselben erhielt ich nicht das geringste Resultat, sondern nur ein Narbenhäutchen ohne Spirochäten. Ueber die anderen, bei denen zur Zeit verdächtige Erscheinungen auftreten (Trübung der Hornhaut, Keratitis, Geschwüre) werde ich später berichten.

Mit diesem einzigen unzweifelhaften Fall von Uebertragung aufs Kaninchen (die betreffenden Präparate wurden auch von Prof. Schaudinn geprüft, der meiner Anschauung vollauf beistimmt), halte ich mich doch nicht dazu berechtigt, zu glauben, daß wir in der Hornhaut des Kaninchens einen Elektivsitz für die Probeinneste haben werden, der verglichen werden kann mit dem Hornhautsitz für das Impfinnest.

Es kann nicht ausgeschlossen werden, daß dem wirklich so ist, ohne weitere positive Fälle aber kann dies auch ein frommer Wunsch bleiben. Die im Laufe befindlichen Versuche werden darüber Auskunft geben, ob wir in der Hornhaut des Kaninchens wirklich ein Gewebe besitzen, das sich zur Lokalisation der Spirochäten eignet. Fallen diese

Versuche positiv aus, so ist die biologische und praktische Bedeutung, die die Erscheinung erwirbt, ohne weiteres einleuchtend.

Für den Augenblick (und ich halte mich nicht weiter bei den Einwendungen auf, die eventuell erhoben werden könnten, denn sie fallen, sobald man die Präparate auch nur halbwegs beobachtet hat, die jeder-mann zur Verfügung stehen) steht fest, daß die Uebertragung der Syphilis auf die Hornhaut des Kaninchens gelungen ist und zwar mit einer typischen Spirochäteninvasion des Gewebes und Erscheinen einer Läsion, die sehr stark an die syphilitischen Defekte erinnert (starke Mononukleose, Anhäufung und lymphocytäre, perivaskuläre Infiltration).

Außerdem konnten bei dieser syphilitischen Keratitis des Kaninchens Bilder beobachtet werden, die wahrscheinlich zu Gunsten eines Längsspaltungsprozesses der *Spirochaete pallida* Zeugnis ablegen.

Nachtrag. Während ich diese Arbeit veröffentliche, bietet ein zweites Kaninchen, das an der Hornhaut mit dem Geschabe einer Schleimhautpapel injiziert worden war, eine leichte Hornhauttrübung und Unregelmäßigkeit der Oberfläche der Hornhaut, und das fast 2 Monate nach erfolgter Inokulation. Bei Prüfung der Hornhaut ergibt sich mir eine leichte lymphocytäre Infiltration und eine enorme Anzahl Spirochäten.

Nachdruck verboten.

## Zur Frage über die Rolle der thermophilen Bakterien im Darmkanal des Menschen.

[Aus dem Bakteriologischen Laboratorium des Botanischen Kabinetts an der Kaiserlichen Militär-Medizinischen Akademie zu St. Petersburg.]

Von N. N. Anitschkow, St. Petersburg.

Das Vorhandensein von thermophilen Bakterien im Darmkanal des Menschen ist zum erstenmal von Miquel<sup>1)</sup> im Jahre 1881 festgestellt worden, der aber, ohne diesem Befunde besondere Beachtung zu schenken, nur darauf hingewiesen hat, daß die thermophilen Bakterien, die in der Natur überhaupt stark verbreitet sind, auch im Darmkanal des Menschen angetroffen werden können.

Im Jahre 1888 berichtet Globig<sup>2)</sup> in seinem Aufsatz über „Bakterienwachstum bei 50—70° C“ bei der Besprechung der Frage der Verbreitung der thermophilen Bakterien in der Natur unter anderem auch über die Resultate seiner eigenen Experimente, die darauf hinausgingen, diese Bakterien aus den Faeces des Menschen zu isolieren. Er bestrich Kartoffelscheiben an der Oberfläche mit geringen Quantitäten von Faeces und brachte die auf diese Weise beschickten Kartoffelscheiben in den Brutschrank bei einer Temperatur von 64° C. In der weitaus größten Mehrzahl der Fälle blieben die in der geschilderten Weise infizierten Kartoffelscheiben vollständig steril. Globig enthält sich jeglicher Schluß-

1) Annuaire de Montsouris. 1881. Leider ist es mir nicht gelungen, diese Arbeit von Miquel im Original zu erreichen; ich mußte mich infolgedessen mit seinem zweiten Aufsatz: „Monographie d'un bacille vivant au-delà de 70° C“ begnügen, der in den Annales de micrographie (1888. Vol. I. p. 3) erschienen ist.

2) Globig, Zeitschrift für Hygiene. Bd. III. p. 295.

folgerung in Bezug auf die Quantität und die Rolle dieser Bakterien im Darmkanal des Menschen.

In den Jahren 1894<sup>1)</sup>, 1896<sup>2)</sup> und 1899<sup>3)</sup> weisen Mc. Fadyen und Blaxall, indem sie der Frage der Verbreitung der thermophilen Bakterien in der Natur näher treten, unter anderem darauf hin, daß diese Bakterien auch in den Faeces des Menschen vorkommen. Eine ausführliche Beschreibung ihrer Untersuchungen geben die Autoren nicht, ebensowenig gehen sie auf die Frage der Quantität und auf die Rolle der thermophilen Bakterien im Darm des Menschen ein.

Im Jahre 1895 hat Lydia Rabinowitsch<sup>4)</sup> in ihrer Arbeit „Ueber die thermophilen Bakterien“ 8 Arten von thermophilen Bakterien beschrieben, darunter auch solche, die sie in den Faeces des Menschen gefunden hat. Um diese Bakterien zu isolieren, bediente sich Lydia Rabinowitsch folgender Methode: Sie stellte eine wässrige Emulsion der Faeces her, ließ dann die Emulsion 24 Stunden lang im Thermostaten bei 60–70° C stehen und beschickte hierauf mit derselben Agarplatten. Auf dem mit der Emulsion infizierten Agar wurde stets reichliche Entwicklung von Bakterien beobachtet. Auf Grund dieser Beobachtungen gelangt nun Lydia Rabinowitsch zu dem Schluß, daß die Quantität der thermophilen Bakterien im Darmkanal des Menschen sehr groß ist<sup>5)</sup>.

Im Jahre 1902 hat Tsiklinski<sup>6)</sup> in ihrer Arbeit „Recherches sur les microbes thermophiles“ 21 Arten von thermophilen Bakterien beschrieben, die sie aus den Faeces Erwachsener sowohl wie Neugeborener isoliert hatte. Bei den Untersuchungen, die der soeben erwähnten Arbeit zu Grunde liegen, hat Tsiklinski die von ihr beschriebenen thermophilen Bakterienarten zum erstenmal nach der Methode von Gram gefärbt und in sämtlichen Fällen ein positives Resultat erzielt. Zur Isolierung der thermophilen Bakterien bediente sie sich einer Methode, die im großen und ganzen sich nur wenig von der von Lydia Rabinowitsch angewandten Methode unterscheidet: Sie infizierte nämlich mit geringen Faecesquantitäten (2–3 Oesen) verschiedene Nährmedien (Agar, Bouillon, Blutserum, Milch, Kartoffeln) und legte, nachdem die infizierten Nährmedien 24 Stunden im Brutschrank bei 58–60° C verblieben waren und auf denselben bereits Entwicklung von Bakterien zu sehen war, mit diesem Material auf in Petri-Schalen ausgegossenem Agar-Kulturen an. Das Wachstum der Bakterien war in diesen Plattenkulturen gewöhnlich ein sehr reichliches. Bisweilen blieben übrigens einige mit Agar ausgegossene Petri-Schalen steril. Am Schlusse ihrer Ausführungen äußert sich Tsiklinski dahin, daß die thermophilen Bakterien irgend eine Rolle im Darmkanal kaum spielen.

Schließlich hat noch im Jahre 1905 Bruini in seiner Abhandlung „Ueber die thermophile Mikrobenflora des menschlichen Darmkanals“<sup>7)</sup> einige neue Arten thermophiler Bakterien und Streptothricheen beschrieben, welche er aus menschlichen Faeces mittels derselben Methode

1) The British Medical Journal. Vol. II. p. 644.

2) Journal of Pathology and Bacteriology. Vol. III. p. 87.

3) Transaction of the Jenner Inst. of prev. Med. Sec. series. 1899. Von diesem Aufsatz habe ich nur durch das in Baumgartens Jahresbericht (Bd. XV. p. 723) erschienene Referat Kenntnis erhalten.

4) Zeitschrift für Hygiene. Bd. XX. p. 154.

5) l. c. p. 160.

6) Bulletin de la Société Imp. des naturalistes de Moscou. T. XVI. p. 380.

7) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXVIII. p. 177.

wie Tsiklinski isoliert hatte; die Frage aber über ihre Qualität und Rolle im Darmkanale läßt er unentschieden.

Fassen wir die oben zitierten Angaben der Literatur zusammen, so sehen wir, daß bei Globig die mit Faeces infizierten Nährmedien in der Mehrzahl der Fälle vollständig steril blieben, während bei Rabinowitsch und Tsiklinski auf den Nährmedien reichliches Wachstum der thermophilen Bakterien beobachtet wurde.

Würde man die Resultate der Untersuchungen von Globig zum Ausgangspunkte der Betrachtungen machen, so würde man denken können, daß die thermophilen Bakterien im Darmkanal nur in sehr unbedeutender Anzahl vorkommen, indem sie in denselben mit den Speisen und Getränken gelangen und den Magen-Darmkanal, ohne irgendwie ihre Vitalität zu betätigen, ohne sich zu vermehren, eventuell sogar als Sporen passieren. Demgegenüber erscheint im Lichte der Beobachtungen von Rabinowitsch und Tsiklinski die Annahme gerechtfertigt, daß diese Bakterien sich im Darmkanal selbst vermehren und durch ihre Vitalität, die im Darm vor sich gehenden Prozesse in irgend einer Weise zu beeinflussen vermögen.

Der Widerspruch, in dem die Untersuchungsergebnisse der genannten Autoren zueinander stehen, konnte vielleicht ein scheinbarer und durch die Verschiedenheit der von den Autoren angewendeten Untersuchungsmethoden bedingt gewesen sein. So hat Globig, wie wir gesehen haben, auf Kartoffelscheiben unmittelbar mit den Faeces Kulturen angelegt, während Rabinowitsch und Tsiklinski die Kotpartikelchen in die Reagenzgläschen mit Wasser oder mit irgend einem Nährmedium brachten und mit diesem Material erst dann auf in Petri-Schalen ausgegossenem Agar-Kulturen anlegten, nachdem dasselbe bei einer Temperatur von 58—70° C 24 Stunden lang im Brutschrank gestanden hat. Bei Globig ist die Möglichkeit einer Wucherung der Bakterien vor der Abschätzung ihrer Quantität ausgeschlossen, während bei Rabinowitsch und Tsiklinski sämtliche für das Wachstum der Bakterien erforderlichen Bedingungen allem Anscheine nach durchaus geboten waren.

In Anbetracht dieser Unklarheit der Frage machte mir Herr Dr. S. S. Mereshkowsky den Vorschlag, die Zweckmäßigkeit der im Vorstehenden geschilderten Untersuchungsmethoden zu prüfen und nach getroffener Wahl der geeignetsten Untersuchungsmethode die ungefähre Quantität der im Darmkanal des Menschen vorkommenden thermophilen Bakterien zu bestimmen. Meine Untersuchungen habe ich mit den Faeces eines erwachsenen gesunden Menschen ausgeführt. Die Faeces wurden bei der Defäkation in sterile Doppelschalen aufgefangen; Proben für die Untersuchung wurden den auf diese Weise gesammelten Faeces nicht später als eine halbe Stunde nach deren Ausscheidung aus dem Darm entnommen.

Als Nährmedien gebrauchte ich Bouillon und Agar, die neutral oder schwach alkalisch reagierten; die Bouillon wurde nicht aus Fleisch, sondern aus Extractum carnis Cibils bereitet<sup>1)</sup>. Diese Nährmedien wurden in der üblichen Weise im Kochschen Dampfapparat bei 100° C sterilisiert und enthielten, wie die Kontrollbeobachtungen ergeben haben, an und für sich niemals thermophile Bakterien. Die mit Wasser gefüllten Reagenzgläschen, die bei den Untersuchungen Verwendung fanden, wur-

1) Da 1-proz. Agarlösungen bei 60° C stark erweichten, verwendete ich 1½-—2-proz. Agarlösungen;

den zuvor im Papinschen Topf bei  $120^{\circ}\text{C}$  10—15 Minuten lang sterilisiert. Der Brutschrank, in den die zu untersuchenden Faecesproben gebracht wurden, war auf  $60\text{--}66^{\circ}\text{C}$  eingestellt. Um die Nährmedien vor Eintrocknung im Brutschrank zu schützen, wurden die Reagenzgläser mit Gummikapseln überzogen oder (ebenso wie die ausgegossenen Petri-Schalen) in eine Dose gestellt, die am Boden eine geringe Quantität Wasser hatte und mit einem geschliffenen Pfropfen verschlossen war.

In denjenigen Fällen, in denen sich auf den Nährmedien Bakterien entwickelt haben, wurden mikroskopische Präparate angefertigt, die sowohl im lebenden Zustande, als auch nach Gram gefärbt, untersucht wurden. Bei meinen sämtlichen Untersuchungen habe ich ausschließlich Stäbchen beobachtet, die teils beweglich, teils unbeweglich waren, aber stets die Eigenschaft besaßen, sich nach Gram zu färben.

Um mich hinsichtlich der ungefähren Quantität der thermophilen Bakterien in den Faeces des Menschen zu orientieren, habe ich eine Reihe von Beobachtungen ausgeführt, die folgendermaßen angeordnet waren: 2—6 Oesen Faeces wurden in ein Reagenzglas mit 6—8 ccm sterilisierten Wassers oder sterilisierter Bouillon gebracht. Nach sorgfältiger Verreibung der Faeces bis zur Entstehung einer gleichmäßigen Emulsion wurden mit dieser Emulsion entweder auf in Petri-Schalen ausgegossenen Agar-Kulturen angelegt oder Bouillon geimpft. Sowohl die Agarplatten, wie die geimpfte Bouillon wurden in den auf  $60\text{--}66^{\circ}\text{C}$  eingestellten Brutschrank gebracht und täglich auf das Auftreten von Wachstumserscheinungen untersucht.

Die erzielten Resultate waren folgende:

**Beobachtung No. 1.** 2 Oesen Faeces wurden im Reagenzglas mit sterilem Wasser so lange geschüttelt, bis eine Emulsion entstand, worauf mit dieser Emulsion sofort Platten gegossen wurden, und zwar eine auf schwach alkalischem und eine auf neutralem Agar, wobei jedesmal aus dem Reagenzglas 2 Oesen Faecesemulsion entnommen wurden. Die Schalen wurden hierauf in den auf  $60^{\circ}\text{C}$  eingestellten Brutschrank gebracht. Ein Wachstum von Bakterien wurde auf diesen Platten selbst nach 48 Stunden nicht beobachtet.

**Beobachtung No. 2.** In 10 Reagenzgläsern mit sterilisiertem Wasser wurden je 6 Oesen Faeces gebracht und mit Wasser emulgiert; aus jedem Reagenzglas wurden dann der Faecesemulsion je 6 Oesen entnommen und damit je ein Reagenzglas mit schwach alkalischer Bouillon, und je ein Reagenzglas mit schräg ausgegossenem, schwach alkalischem Agar infiziert. Sowohl die Reagenzgläser mit der infizierten Bouillon, wie auch diejenigen mit dem infizierten Agar wurden in den auf  $62^{\circ}\text{C}$  eingestellten Brutschrank gebracht. Am 2. Tage zeigte sich in einem der 10 Reagenzgläser mit Agar Wachstum in Form einer weißen, halb durchsichtigen Membran, sowie in Form von Trübung der Kondensationsflüssigkeit. Die übrigen Reagenzgläser, und zwar sowohl die restierenden 9 Agar- wie sämtliche 10 Bouillon-Reagenzgläser blieben selbst nach 3 Tagen langem Verweilen im Brutschrank bei einer Temperatur von  $62\text{--}63^{\circ}\text{C}$  steril.

**Beobachtung No. 3.** Das Experiment wurde diesmal genau so angeordnet wie in der Beobachtung No. 2. In keinem einzigen der sowohl mit Agar wie mit Bouillon gefüllten und in der geschilderten Weise infizierten Reagenzgläser zeigte sich Wachstum selbst am 3. Tage ihres Verweilens im auf  $64\text{--}66^{\circ}\text{C}$  eingestellten Brutschrank.



**Beobachtung No. 4.** Das Experiment wurde diesmal wiederum genau so angeordnet wie in den beiden vorangehenden Beobachtungen. Diesmal war nicht in einer einzigen der 10 Bouillon- oder Agarkulturen selbst nach 4 Tage langem Verweilen der infizierten Reagenzgläschen im auf 64—65° C eingestellten Thermostaten Wachstum zu sehen.

**Beobachtung No. 5.** 2 Oesen Faeces wurden in ein Reagenzgläschen, welches ca. 6 ccm Bouillon enthielt, gebracht und mit dieser letzteren emulgiert; unmittelbar darauf wurden von dieser Emulsion je 3 Oesen in ein Reagenzgläschen mit schwach alkalischer und in ein Reagenzgläschen mit neutraler Bouillon gebracht. Die auf diese Weise beschickten Reagenzgläschen blieben 3 Tage lang im Brutschrank bei einer Temperatur von 61° C, ohne daß auch in einem Reagenzgläschen sich Wachstum zeigte.

**Beobachtung No. 6.** 3 Oesen Faeces wurden in einem Reagenzgläschen mit ca. 8 ccm Bouillon emulgiert, worauf mit dieser Emulsion (je 6 Oesen) sofort je ein Reagenzgläschen mit schwach alkalischer und neutraler Bouillon geimpft wurden. Außerdem wurden mit derselben Bouillon zwei Serien Plattenkulturen auf schwach alkalischem und neutralem Agar angelegt, wobei wiederum je 6 Oesen von derselben Emulsion verbraucht wurden. Die Bouillonkulturen wie die Agarplatten wurden in den auf 60° C eingestellten Thermostaten gebracht. In keiner Kultur zeigte sich Wachstum, selbst nicht nach 3 Tagen bei einer Temperatur von 60—61° C.

**Beobachtung No. 7.** Das Experiment wurde genau so angeordnet wie in der vorstehenden Beobachtung. Die Reagenzgläschen und Schalen blieben auch in diesem Falle nach 2 Tagen, bei einer Temperatur von 60—61° C vollständig steril.

**Beobachtung No. 8.** 5 Oesen Faeces wurden mit ca. 8 ccm Bouillon in einem Reagenzgläschen emulgiert und von dieser Emulsion sofort je 6 Oesen in ein Reagenzgläschen mit neutraler und in zwei Reagenzgläschen mit schwach alkalischer Bouillon überimpft, außerdem zwei Serien Plattenkulturen auf schwach alkalischem und eine Serie auf neutralem Agar angelegt, wobei für jede Plattenserie je 6 Oesen Emulsion verwendet wurden. Die geimpften Bouillon-Reagenzgläschen, sowie die beschickten Agarschalen wurden in den auf 60° C eingestellten Brutschrank gebracht. Nach 24 Stunden wurde in einem der mit alkalischer Bouillon gefüllten Reagenzgläschen allgemeine Trübung des Mediums konstatiert. Die übrigen Reagenzgläschen, sowie auch sämtliche in Schalen angestellten Agarplatten blieben 4 Tage lang bei einer Temperatur von 60—61° C steril.

**Beobachtung No. 9.** 6 Oesen Faeces wurden mit ca. 8 ccm Bouillon in einem Reagenzgläschen emulgiert, worauf mit dieser Emulsion sofort eine Serie von Plattenkulturen auf schwach alkalischem Agar angestellt wurde, wobei in die erste Verdünnung 6 Oesen Emulsion gebracht wurden; von derselben Emulsion wurden je 6 Oesen in ein Reagenzgläschen mit schwach alkalischer und in ein Reagenzgläschen mit neutraler Bouillon überimpft. Weder in den Agarschalen, noch in den Bouillon-Reagenzgläschen war innerhalb 3 Tagen bei einer Temperatur von 59,5—60,0° C Wachstum zu sehen.

**Beobachtung No. 10.** 6 Oesen Faeces wurden mit ca. 8 ccm Bouillon in einem Reagenzgläschen emulgiert. Mit dieser Faecesemulsion wurden in 10 Reagenzgläschen mit schwach alkalischer Bouillon und ebenso vielen Reagenzgläschen mit schräg ausgegossenem, schwach alkalischem

Agar Kulturen angelegt, wobei für jedes Reagenzglaschen 6 Oesen Emulsion verwendet wurden. Außerdem wurden mit derselben Faecesemulsion drei Serien Plattenkulturen auf schwach alkalischem Agar angelegt, wobei in die ersten Verdünnungen je 6 Oesen überimpft wurden. Sowohl die geimpften Bouillon- und Agar-Reagenzgläschen, wie auch die Plattenkulturen wurden in den auf 64° C eingestellten Brutschrank gebracht. Nach 24 Stunden wurde auf der schrägen Oberfläche des Agar in einem Reagenzglaschen Bakterienentwicklung in Form einer dünnen weißlichen Membran mit Trübung der Kondensationsflüssigkeit wahrgenommen. Die übrigen Reagenzgläschen, und zwar sowohl diejenigen mit Bouillon, wie auch diejenigen mit Agar, desgleichen sämtliche in Schalen gegossene Platten blieben 4 Tage lang bei einer Temperatur von 63–65° C steril.

Beobachtung No. 11. In 5 Reagenzgläschen mit je 6–8 ccm Bouillon wurden je 6 Oesen Faeces emulgiert. Mit jeder auf diese Weise gewonnenen Emulsionen wurden sofort zwei Kulturen angelegt und zwar wurden je 6 Oesen Emulsion in je ein Reagenzglaschen mit schwach alkalischer Bouillon und in je ein Reagenzglaschen mit schwach alkalischem Agar (schräger Oberfläche) überimpft. In keinem der Reagenzgläschen wurde innerhalb 3 Tagen bei einer Temperatur von 64–65° C Bakterienwachstum beobachtet.

Eine Zusammenstellung der bei den vorstehenden Beobachtungen gewonnenen Resultate ergibt folgendes Bild:

Tabelle I.

Resultate bei der Infektion der Nährmedien mit nicht dichter Faecesemulsion (in Wasser oder Bouillon) unmittelbar nach Herstellung derselben.

Reihenfolge der Beobachtungen	Anzahl der Oesen Faeces, die zur Herstellung der Wasser- oder Bouillonemulsion verwendet wurden	Anzahl der Oesen, die von der Emulsion abgeimpft wurden			Wieviel Reagenzgläschen wurden infiziert?		Wieviel Platten wurden gegossen?	Wachstum aufgetreten in	
		in Reagenzgläschen		in die erste Verdünnung der Agarplatten	mit Bouillon	mit Agar		Reagenzgläschen	Schalen
		mit Bouillon	mit Agar						
I	2	—	—	2	—	—	2	—	0
II	6	6	6	—	10	10	—	1 <sup>1)</sup>	—
III	6	6	6	—	10	10	—	0	—
IV	6	6	6	—	10	10	—	0	—
V	2	3	—	—	2	—	—	0	—
VI	3	6	—	6	2	—	2	0	0
VII	3	6	—	6	2	—	2	0	0
VIII	5	6	—	6	3	—	3	1 <sup>2)</sup>	0
IX	6	6	—	6	2	—	1	0	0
X	6	6	6	6	10	10	3	1 <sup>3)</sup>	0
XI	6	6	6	—	5	5	—	0	—

Aus dieser Tabelle ersehen wir, daß es nur in sehr seltenen Fällen gelingt, Entwicklung von thermophilen Bakterien zu erzielen, wenn die Nährmedien nicht mit sehr dichten Faecesemulsionen infiziert werden und diese Infektion unmittelbar nach der Herstellung der Emulsionen stattfindet.

Die Resultate erfahren aber eine in die Augen fallende Veränderung,

1) In einem Reagenzglaschen mit schwach alkalischem Agar. 2) In einem Reagenzglaschen mit schwach alkalischer Bouillon. 3) In einem Reagenzglaschen mit schwach alkalischem Agar.

wenn man die Emulsion, bevor dieselbe zur Anlegung von Kulturen verwendet wird, 24 Stunden bei einer Temperatur von 60—66° C stehen läßt; dies geht aus folgender Beobachtung hervor:

Beobachtung No. 12. In 6 Reagenzgläschen mit schwach alkalischer Bouillon wurden Faeces, und zwar je 2 Oesen pro Reagenzgläschen, emulgiert. Nachdem diese Reagenzgläschen samt Emulsion 24 Stunden bei einer Temperatur von 64° C im Brutschrank gestanden haben, wurden von dem Inhalt eines jeden Reagenzgläschens je 2 Oesen in ein Reagenzgläschen mit schwach alkalischer Bouillon und in ein Reagenzgläschen mit schwach alkalischem, schräg ausgegossenem Agar überimpft. Sämtliche Reagenzgläschen wurden in den Brutschrank bei 64° C gebracht. Nach 24 Stunden zeigten 3 Bouillon- und sämtliche 6 Agar-Reagenzgläschen Bakterienwachstum. In den übrigen 3 Bouillon-Reagenzgläschen war innerhalb 2 Tagen bei einer Temperatur von 64 bis 65° C Bakterienentwicklung nicht zu sehen. (Schluß folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Ueber die pathogene Wirkung der in die Trachea geimpften Blastomyceten.

[Aus dem Hygienischen Institut der K. Universität Messina.]

Von Prof. **Francesco Sanfelice.**

Mit 1 Tafel.

(Schluß.)

### VI.

Klebs, Hauser, Hansemann und andere mehr haben an den Tumoren Abweichungen vom Normaltypus der Karyokinesis beobachtet. Die Modifikationen der Mitosen umfassen alle Phasen und sämtliche Bestandteile der karyokinetischen Figuren. Chromosomen und Spindeln nehmen andere Gestalt an, es wechselt die Zeitdauer der einzelnen Phasen, die Lage der Mitosen in den Zellen, die Zellform während der Mitose. Hansemann machte die Beobachtung, daß die Abweichungen vom normalen Typus um so beträchtlicher ausfallen, je weiter das Parenchym der Geschwulst sich morphologisch und physiologisch vom Muttergewebe entfernt. So beschreibt der Autor Zellen mit normalem Chromosomeninhalt, die aber ihre Form änderten (sich verkürzten oder verdickten); andere, wo die Centrosomen eine Modifikation erlitten (durch Anschwellen der Polkörper) und endlich Fälle, wo die Zellteilung in Unordnung geraten war. Er erwähnt ferner hypochromatische Zellen mit geringerem Chromosomeninhalt und hyperchromatische, wo dieser zugenommen hat. Die letzteren können mittelst vielfacher Teilung wieder zu normaler Chromosomenzahl zurückkehren, während die hypochromatischen Zellen durch asymmetrische Teilungen entstehen.

In den epithelähnlichen Zellen, woraus ein Teil der Neubildungen in der Lunge mit pathogener Hefe geimpfter Versuchstiere (Meerschweinchen und Kaninchen) besteht, treten in nicht geringer Menge pathologische Mitosen auf. Auch in den Epithelzellen der Bronchienbekleidung sah ich hier und da pathologische Mitosen. Obschon mir

aber hypochromatische Mitosen begegneten, wollte es doch nie gelingen, die asymmetrische Form aufzufinden.

Die pathologischen Mitosen sind durchaus ohne diagnostischen Wert für die malignen Tumoren, denn viele Forscher trafen sie in kranken Geweben, die mit echten Neoplasien nicht das mindeste gemein hatten. Auch die Schwankungen in der Beharrlichkeit des Charakters der Mitosen, welche Hansemann als exklusives Gepräge für die malignen Tumore in Anspruch nimmt — weil man sie bei regenerativen oder hyperplastischen entzündlichen Proliferationen vergeblich sucht — sind, wie der Verfasser selbst zugibt, als Ausnahmen zu betrachten. Und wie die Mitosen, haben auch die degenerativen Vorgänge im Parenchym der malignen Geschwülste nichts Charakteristisches an sich. Früher galt Degeneratio adiposa als Merkmal der Entzündung, Degeneratio caseosa als das der Tuberkulose und Degeneratio colloidis hielt man für das Kennzeichen des Krebses. Heute wissen wir, daß derlei Degenerationserscheinungen als Begleiter der verschiedenartigsten pathologischen Vorgänge auftreten können. Sehr treffend versichert Hansemann, daß „in malignen Tumoren nichts passiert, was nicht auch in anderen Geschwülsten und bei anderen pathologischen Prozessen vorkäme.“ Wie in den übrigen pathologischen Geweben, stößt man auch in den malignen Tumoren sowohl auf die fettige als auf die käsige und auf die kolloide Degeneration. Ueberhaupt gibt es, was die maligne Geschwulst betrifft, keine absolut gültige Richtschnur, und findet sich einmal, was einer Regel gleicht, so steht auch schon die Ausnahme daneben, wie es mit der Fettdegeneration der Fall ist. Einst nahm man bestimmt an, sie sei unter den Carcinomen verbreiteter als unter den Sarkomen, später stellte es sich heraus, daß in jeder malignen Geschwulst Fett vorkommt. Ebenso wenig kann der käsigen Degeneration die spezifische Vertretung der malignen Tumoren zuerkannt werden; morphologisch ist sie identisch mit den käseösen Produkten der Tuberkulose und der Syphilis. Was endlich die kolloide Degeneration betrifft, so besitzen wir nur sehr unzureichende Kenntnisse von der chemischen Natur der mit diesem Namen bezeichneten Substanzen. Den chromatischen Modifikationen der Zellkerne, Karyorhexis mit nachfolgender Chromatolyse, welche zugleich mit genannten Degenerationen auftreten, begegnet man sowohl in den malignen Tumoren, als bei pathologischen Vorgängen anderer Art.

Weiter oben sprach ich von Riesenzellen, die man in Lungenneubildungen von Meerschweinchen und Kaninchen wahrnahm. Diese Riesenzellen entstehen meistens durch Verschmelzung der Protoplasmakörper epithelähnlicher Zellen. Andere dagegen bestehen aus eng zusammengedrängten und häufig durch dünne Fasern unter sich verbundenen Zellkernen. Letztere sind mit der Form verwandt, die Hansemann als Bestandteil der malignen Tumoren folgendermaßen beschreibt: „Es war schon oben von der Karyorhexis und der Chromatolyse die Rede im Zusammenhang mit gleichzeitig degenerativen Prozessen im Cytoplasma. Diese Vorgänge kommen nun auch unabhängig von Degenerationen im Zellkörper vor und zwar die Chromatolyse sowohl an der ruhenden wie an der sich teilenden Zelle. Die Karyorhexis beginnt mit einer Einschnürung des Kernes an irgend einer beliebigen Stelle. Meist ist dies nicht die Mitte, so daß ein kleinerer und größerer Teil entsteht. Von dem größeren schnüren sich dann weitere Stücke ab in der gleichen Weise, so daß schließlich eine vielkernige Zelle zu

stande kommt. Da es sich hier meist um Zellen mit großen, oft geradezu mächtigen Kernen handelt, so entstehen polynukleäre Riesenzellen. Die Kernstücke liegen in der Regel aneinandergedrängt und wenn man genau zusieht, so kann man bemerken, daß in den meisten Fällen die Kernstücke noch mit feinen Fäden aneinanderhängen.“

Wie bei einigen Entzündungsprozessen, finden in gleicher Art und Weise auch sonst Epithelwucherungen statt, die selbst ein geübtes Auge mit echten Tumoren verwechseln kann; in echten Neoplasien entstehen kollaterale Parenchymwucherungen, die viele Analogieen mit den Proliferationen des Bronchialepithels besitzen, d. h. mit Wucherungen, welche nach Endotrachealimpfen der lösliche Produkte enthaltenden Hefekulturen in den Lungen von Meerschweinchen und Kaninchen wahrzunehmen sind. Man kann ihr Erscheinen somit nur einer dem Organismus fremden chemischen Substanz zuschreiben, die, von pathogenen Keimen hervorgebracht, die Eigenschaft besitzt, den Biochemismus der Zellen derart zu modifizieren, daß sie, um sich ihrer zu erwehren, zu übertriebener Vermehrung genötigt sind. Behufs besserer Erklärung der erwähnten Analogieen folge hier, was Hansemann über die kollateralen Hyperplasien in den Geschwülsten schreibt; „Beginnen wir zunächst mit den Primärtumoren, so sehen wir, daß in der Nachbarschaft eines solchen dasjenige Gewebe, aus dem der Tumor sich entwickelt, und auch die verwandten Gewebe mit großer Regelmäßigkeit, wenn auch nicht ohne Ausnahme, hypertrophisch werden. In der Umgebung eines Cancroids der Haut, der Schleimhäute und des Oesophagus sind die Epithelleisten verbreitert und verlängert, der Papillarkörper vergrößert. Daran können sich auch die Schweißdrüsen und Talgfollikeln beteiligen, und diese allgemeine Hypertrophie klingt allmählich in die weitere Umgebung aus. Alle Schichten der betreffenden Haut nehmen an der Hypertrophie teil, die Keimschicht, das Rete und auch die Hornschicht, falls es sich um epidermoidale Gebilde handelt. Auch die Schleimhäute mit Flimmer- und Cyliinderepithelien verdicken sich oder werden mit Vorliebe epidermoidal in der Umgebung primärer Carcinome, das letztere besonders, wenn dieselben durch Zellvariation Cancroide geworden sind. Bei Magen- und Darmkrebsen sieht man in der Umgebung die Drüsenschläuche verlängert und auch bei den Uteruskrebsen und den Erosionscarcinomen der Portio wachsen die Drüsen in der Nachbarschaft zu langen, schlauchartigen Gebilden aus. Diese kollateralen Wucherungen sind oft von solcher Mächtigkeit, daß sie besondere Geschwülste darstellen. An der äußeren Haut und besonders im Larynx entstehen verruköse Pachydermien und größere Warzen, die, wenn sie allein bei der Probeexcision entfernt werden, zu der Vorstellung gutartiger Tumoren führen können. Im Darm, im Uterus und in der Blase bilden sich papilläre, blumenkohlartige Exkreszenzen, Polypen, diffuse Schleimhautwucherungen und dergleichen, die ebenfalls zu Verwechselungen Veranlassung geben können. In der Milchdrüse können diese Wucherungen durch die erweiterten Kanäle bis zur Mamilla herauswachsen, ganz wie bei dem intrakanalikulären Fibrom. Auch bei dem primären Leberkrebs kommt es in der Nachbarschaft oft zur Adenombildung. Bei allen diesen Zuständen ist es nicht wunderbar, daß man die Ansicht vielfach vertreten hat, daß der Carcinomentwicklung ein hyperplastisches Stadium vorangeht, was aber sicher nicht immer der Fall ist, wahrscheinlich sogar nur in den wenigsten Fällen. Endlich sehen wir die gleichen Zustände auch bei

den Sarkomen. Besonders die Osteo- und Chondrosarkome erzeugen oft so erhebliche Knochenwucherungen, daß sie von einem vollkommenen Skelett ausgefüllt oder durch eine Knochenkapsel eingeschlossen sind. In der Umgebung von Gliosarkomen finden sich oft noch weitgehende Gliawucherungen und neben den Myosarkomen des Uterus findet man noch echte Myome und diffuse myomatöse Hyperplasie des Organs.“

## VII.

Im vorigen Paragraphen sahen wir, wie es sich mit der Gemeinschaft echter Neoplasieen mit denjenigen Neubildungen verhält, die durch endotracheale Injektion pathogener Hefen samt ihren Produkten in der Lunge der geimpften Meerschweinchen entstehen. Auf Grund dieser Betrachtungen können wir mit vollster Berechtigung im Sinne Hansemanns und mit seinen eigenen Worten abschließen: „Es ist ja selbstverständlich, daß nicht alles, was man bei malignen Tumoren findet, für dieselben pathognomisch ist. Vieles wird sich bei gutartigen Neubildungen, bei entzündlichen Wucherungen, ebensogut finden.“

Da aber trotzdem an Differenzen festgehalten wird, die zwischen infektiiven Neubildungen und echten Neoplasieen bestehen sollen, so betrachten wir sie etwas näher.

Interessant ist in dieser Hinsicht vor allem, was Cohnheim in seiner Abhandlung über allgemeine Pathologie von den malignen Tumoren und den durch Infektion hervorgerufenen Geschwülsten sagt: „Gesetzten Falls, ein Individuum werde von einer infektiiven Entzündung im Gesicht befallen, so schwellen in erster Linie die oberen Cervikaldrüsen an, darauf die unteren und tiefen, und, nimmt die Sache eine schlimme Wendung, so treten in kurzem in Lunge und Leber Abscesse auf, hier und da auch Suppurationen und Eiterherde in der Niere, Milz und den Muskeln, oder der Prozeß greift die serösen Häute an. Sehen wir in allem dem nicht die Evolution eines Gesichtskrebses vor uns, mit dem einzigen Unterschied, daß sich hier cancröse, dort entzündliche Metastasen abspielen? Und ist die Entwicklungsgeschichte der Syphilis, des Rotzes, häufig auch der Tuberkulose etwa nicht dieselbe. Auf die anfängliche Erhärtung des Penis folgt vor allem die Infiltration der Leistendrüsen und bald darauf kommt es an vielen Stellen der Cutis, dann im Schlund, an den Lippen und endlich an allen möglichen inneren und äußeren Organen zum Ausbruch. Die Diffusion des Rotzes geht von der Nasenschleimhaut auf die Lymphgefäße und sämtliche Lymphdrüsen des Halses, dann auf Lunge, Muskeln etc. über; die Tuberkulose breitet sich von der Lunge über die Bronchialdrüsen, die Pleura aus, dann verbreitet sie sich über die Eingeweide, auf Leber und Milz, bis sie selbst die Hirnhäute ergreift: läßt sich die Idee der Generalisation in einer typischeren Form darstellen. Noch mehr: eine allgemeine Miliarcarcinose hat nicht selten solche Aehnlichkeit mit der allgemeinen Miliartuberkulose, daß man die eine mit der anderen verwechseln kann; ja sogar zwischen der scheinbar so charakteristischen Urogenitaltuberkulose und einer Urogenitalcarcinosis und einer Urogenitalsarkomatose herrscht bisweilen die perfekteste Analogie; denn genau wie die erste rückt auch die letztere von dem Hoden zum Samenstrang, zur Harnblase und der Prostata-drüse, zu den Harnleitern ins Nierenbecken und bis zu den Nieren vor. Wahrlich, wenn jenes Infektionsvorgänge sind, wie könnte dann überhaupt je ein Zweifel an der ansteckenden Natur der malignen Tumoren auftauchen? Der Unterschied besteht darin, daß in den In-

fektionsgeschwülsten das Auswandern von seiten des Mikroorganismus stattfindet, in malignen Tumoren dagegen seitens der Geschwulstzellen selbst. Dieser Differenz in der Metastasenbildung erwähnt auch Hanse mann in seiner Abhandlung. „Die Infektionsgeschwülste“ — schreibt er — „metastasieren in der Weise, daß der Parasit (oder sein Aequivalent) an eine andere Stelle des Körpers gelangt und hier die vorhandenen Gewebe zur Wucherung anreizt. Es entstehen also gleichartige Gebilde nur dann, wenn gleichartiges Gewebe vorhanden ist und dieses findet sich überall im Körper, in der Gestalt der Bindesubstanzen. Daher können Tuberkel an den verschiedensten Stellen des Körpers entstehen und überall in der gleichen Form auftreten. Wenn aber eine Knorpelgeschwulst metastasiert, so bildet sie in der Metastase wieder chondroides Gewebe; wenn ein Epidermiscarcinom metastasiert, so entstehen wieder epidermoidale Gebilde, gleichgültig, in welchem Organe die Metastase sich entwickelt. Das ist nur so denkbar, daß Teile der Geschwulst an andere Stellen verschleppt werden und hier sich zu einer neuen Geschwulst entwickeln. Die Art der Metastasenbildung ist also eine prinzipiell vollkommen andere bei den malignen Geschwülsten, wie bei den Infektionsgeschwülsten.“

Abgesehen von der Tatsache, daß durch Impfen der Hunde mit *Saccharomyces canis* sowohl am Epithel als am Bindegewebe Geschwülste entstehen, während in dem neugebildeten Gewebe nur höchst seltene Parasiten in Gestalt der nicht kulturfähigen Fuchsin- oder Russellschen Körperchen auftreten, halte ich mich an diejenigen Erscheinungen, die bei endotrachealem Impfen der Kulturen mit ihren löslichen Produkten sich, besonders an den Lungen der Kaninchen, beständig erneuern. Ich folgere daraus, daß die Sproßhefen sowohl in Kulturen als im Organismus Substanzen zu erzeugen im stande sind, welche die Zellelemente zum Wuchern anreizen, wodurch ein Junggewebe mit Eigenschaften entsteht, die ihm und den Geweben der echten Tumoren (den Endotheliomen) gemein sind, insofern, als kein Regreß stattfindet und der Tod der Tiere unwiderruflich besiegelt ist. Wird auf Basis der Versuchsergebnisse den Hefen diese Eigenschaft, die Zellelemente zur Neubildung anzureizen, zuerkannt und tatsächlich konstatiert, daß der Gewebewucherung keine der neugebildeten Zahl von Zellkörpern entsprechende Vermehrung der Parasiten die Wage hält, so ergibt sich notwendig das Faktum, daß die Zelle, wenn in ihrem Biochemismus eine Störung eintritt, sich zu vermehren beginnt und auf diesem Wege nicht ruht, bis der Normalzustand ihres Biochemismus wiederhergestellt ist. Damit steht alles, was wir von chemischem Anreiz der Zellen im Organismus und vom Entstehen der Antikörper wissen, in vollem Einklang. Werden nun von den in ihrem Biochemismus zerstörten Zellen einer Geschwulst einzelne oder mehrere von den Lymphströmungen fortgeschwemmt, so fahren sie logischerweise auch auf Distanz zu wuchern fort, bis das Gleichgewicht ihrer biochemischen Verhältnisse von neuem hergestellt ist. Wenn es sich um eine der Zelle innewohnende Fähigkeit statt um die Reaktion zu einem bestimmten Reiz von gegebener Intensität handelt, so wäre es schwer einzusehen, warum die Geschwulst nicht ins Unendliche fortwachsen und die Metastasen ihrem Beispiel nicht folgen sollten.

Gibt es für die malignen Tumoren nichts, was man pathognomonisch nennen kann, und findet sich alles, was an ihnen wahrnehmbar, auch bei anderen, durch bekannte Reize sicher veranlaßten Krankheitsprozessen,

warum soll man sie dann als eigenartige, von allen anderen durch und durch verschiedene Erscheinungen betrachten? Geschwülste sind nur als Effekt biochemischer Veränderungen denkbar, hervorgerufen von dem Organismus fremden Reizen, mit darauffolgender stabiler Wucherung von Zellgruppen, die von ihrem normalen Stammcharakter abweichen können oder auch nicht.

Die Atypie der jungen Gewebe in Tumoren ist nicht sekundärer Natur wie bei Infektionsneubildungen, sondern „beruht auf einer primären Abnormität des Wachstums.“ Im infektiösen Granulom bestimmt das von einem spezifischen Agens repräsentierte ätiologische Moment die Neubildung des Gewebes. „Ganz anders bei den echten Tumoren, bei welchen gerade die Gewebsbildung das Spezifische und für den jeweiligen Fall Charakteristische ist“ (Birsch-Hirschfeld). Angenommen die Atypie der neugebildeten Zellelemente sei bei den infektiösen Granulomen eine Folge der parasitären Anreizung, so gibt es keinen vernünftigen Grund, warum man nicht auch das Abweichen der Geschwulstzellen vom Normaltypus dem Organismus fremden Reizen auf Rechnung setze.

„Das exzessive Wachstum läßt bei allen echten Geschwülsten von vornherein eine gewisse Selbständigkeit erkennen. Weiter zeigt es sich, daß der geschwulstmäßigen Neubildung eine Zielstrebigkeit, wie wir sie bei allen bisher besprochenen produktiven Prozessen erkennen konnten, nicht zukommt. Die Hypertrophie, die Regeneration, die einfache und die entzündliche Hyperplasie, die infektiösen Neubildungen waren samt und sonders reaktive Vorgänge, die als Antwort der Gewebe auf irgend eine Form der Reizung aufzufassen waren; die Wucherung war hier also immer zunächst auf das wirksame Bestehen gegenüber dem krankhaften Reizzustand gerichtet. Bei der geschwulstmäßigen Proliferation dagegen fehlt ein Zweck, ein Nutzen der Wucherung völlig, liegt jedenfalls durchaus nicht im Plane der Produktion“<sup>1)</sup>.

Daß pathologische Zellregeneration ohne Anreizung stattfinden könne, bleibt von vornherein ausgeschlossen. Dagegen ist die physiologische Reproduktion der Zellen erblich und bringt daher den Reiz zur Regeneration mit sich. Die pathologische Zellerneuerung hat nichts vorher Bestimmtes, nichts Konstantes an sich; nichts daran ist der Zeit noch dem Raum nach festgestellt. Ihre Intensität ist dem Wechsel unterworfen, weil eben der Anreiz selbst von der mehr oder weniger intensiven Reaktion abhängt. In allen Neubildungsprozessen hat man die Zellwucherung als Abwehr gegen den Einfluß der löslichen Mikroorganismenprodukte aufzufassen, zum Zweck, die toxische Eigenschaft dieser Substanzen zu neutralisieren. An und für sich und giftiger Produkte bar, stellt der Parasit weiter nichts als einen trägen Körper vor, unfähig, andere Veränderungen hervorzubringen, außer dem Verkapseln, wie dies bei Gegenwart fremder Körper vorkommt. Bei Regeneration, bei einfacher Hypertrophie und Hyperplasie handelt es sich um durchaus verschiedene Wucherungen, deren Entstehen durch Vererbung auf die Zellelemente selbst übertragenen physiologischen Eigenschaften zugeschrieben werden muß. Die physiologische Zellwucherung bringt dem Organismus Vorteil, während die pathologische nur seine Anstrengung darstellt, sich des schädlichen Agens zu erwehren und somit, auch wenn der Zweck erreicht wird, eben nicht viel nützt. Diesen allgemeinen

1) Borst, Die Lehre von den Geschwülsten. Wiesbaden 1902.



Gesetzen, welche die Zelltätigkeit dem Organismus fremden Reizen gegenüber ordnen, sind auch die malignen Neubildungswucherungen unterworfen.

#### Tafelerklärung.

Fig. 1. Lungenschnitt eines Kaninchens. Verendet 46 Tage nach endotrachealer Impfung mit *Saccharomyces canis*. (In Most gezüchtete Kultur.) Epithelähnliche Gewebszellen der Neubildung. Ok. 4. 06. 5. Koristka.

Fig. 2. Dasselbe Präparat. Stärkere Vergrößerung, zur Verdeutlichung von Gestalt und Aufbau der epithelähnlichen Zellen. Ok. 4. 06.  $\frac{1}{12}$  homog. Immers.

Fig. 3. Lungenschnitt eines Meerschweinchens. Endovenöse Impfung mit *Saccharomyces canis*; Kultur auf Kartoffel.  $\frac{1}{2}$  Stunde bei 70° C gehalten. Das Tier verendete 28 Tage nach dem Impfen. Zahlreiche Wucherungen des Bronchialepithels. Ok. 4. 06. 5. Koristka.

Fig. 4. Lungenschnitt eines Kaninchens. Verendet 48 Tage nach Endotrachealimpfung mit *Saccharomyces canis*. Kultur in Most. Atypische Proliferation der Bronchienepithelzellen. Ok. 4. 06.  $\frac{1}{12}$  homog. Immers.

Fig. 5. Lungenschnitt desselben Kaninchens. Zahlreiche Epithelwucherungen. Ok. 4. 06. 5. Koristka.

Fig. 6. Lungenschnitt eines Kaninchens. Verendet 46 Tage nach Tracheaimpfung mit *Saccharomyces canis*. Kultur in Most. Zahlreiche Wucherungen der Bronchialepithelzellen. Ok. 4. 06. 5. Koristka.

Nachdruck verboten.

### Zur Kenntnis des Vaccineerregers.

[Aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin.  
(Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Gaffky. Abteilvorsteher:  
Prof. Dr. Frosch).]

Von Dr. **P. Mühlens** und Dr. phil. **M. Hartmann**  
Marinestabsarzt Privatdozent.

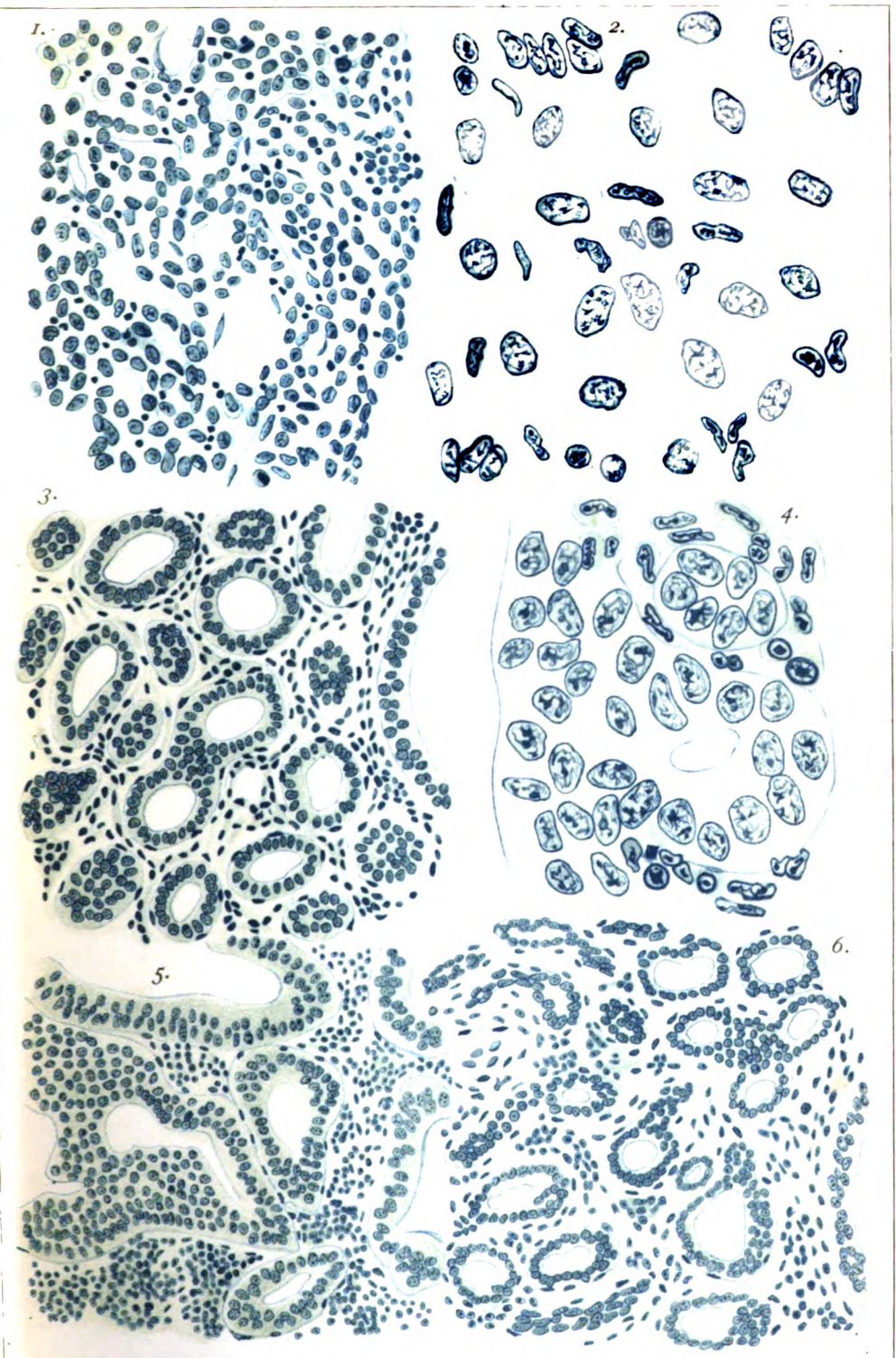
Mit 1 Tafel.

(Fortsetzung.)

Nun hat Siegel (38) in seinen Mitteilungen, besonders in seinen ersten, mit Recht großen Wert auf die Färbung gelegt. Es fragt sich daher, sind die bisherigen Resultate an konservierten und gefärbten Präparaten hinreichend, um den Bau aus Protoplasma und Kernen und somit die Protozoennatur der Gebilde zu beweisen?

Zur Entscheidung dieser Frage müssen wir uns Rechenschaft darüber geben, was zur Charakteristik von Plasma und Kern nötig ist.

a) Als Kriterium für das Protoplasma kann ein bestimmter morphologischer Bau gelten. Mag man dasselbe für granulär, fibrillär, netzig oder wabig strukturiert halten, darin sind wohl alle Zellforscher einig, daß das Plasma eine Struktur besitzt. Was speziell die Protozoenzelle anlangt, so sind wohl die meisten Protozoenkenner der Ueberzeugung, daß derselben ein wabiger Bau im Bütschlichschen Sinne zukommt (oder wenigstens eine Netzstruktur). Von einer solchen Struktur ist aber hier weder am lebenden noch am gefärbten Präparat etwas zu sehen. Es findet sich auch bei letzterem nur ein heller Hof um die sogenannten Kerne. Derselbe gleicht einem Gerinnungshof, wie er bei der Konservierung meist um viele körperliche Gebilde entsteht, und





kann nicht, wie Siegel angibt, als typisch für seine Parasiten angesehen werden. Auch der Umstand, daß bei Färbung mit Eisenhämatoxylin, wobei die sogenannten Kernbilder verschwinden oder ganz undeutlich werden, der helle Saum (das sogenannte Plasma) mitgefärbt erscheint, spricht keineswegs dafür, daß derselbe aus Protoplasma besteht. Aus den eingehenden kritischen Färbungsversuchen von A. Fischer (13), denen sich andere Erfahrungen anschließen — wir erinnern hier nur an die Resultate Boveris (7) bei verschieden starker Färbung der Centrosomen mit Eisenhämatoxylin — dürfte bekannt sein, wie leicht gerade mit Eisenhämatoxylin, aber auch mit anderen Färbemethoden Spiegel- und ähnliche Kunstfärbungen hervorgerufen werden, die auf keinen Fall als Sichtbarmachung präexistierender Formen gedeutet werden dürfen. Immerhin könnte es ja möglich sein, daß ein derartiger strukturloser, hofartiger Protoplasmasaum tatsächlich bei Organismen vorkommen kann, wenn es auch von anderen Mikroorganismen bisher nicht bekannt ist. Nachweisen läßt sich das in unserem Falle aber vorderhand nicht, höchstens könnte es durch den Nachweis von echten Kernen und ihrer Teilung wahrscheinlich gemacht werden. Wie steht es nun damit?

b) Für den Nachweis eines Kernes resp. von Kernsubstanzen gibt es bis jetzt noch keine eindeutige färberische Methode. Darauf ist schon so vielfach hingewiesen worden — wir brauchen hier nur an das oben zitierte Buch von A. Fischer zu erinnern —, daß es unnötig erscheint, dies genauer auszuführen. Erst kürzlich hat noch einer der besten Protozoenkennner, Schaudinn (33), in seinem Referate über die Befruchtung bei Protozoen darauf hingewiesen, daß uns für den Nachweis eines Kernes resp. von Kernsubstanzen nur morphologische und entwicklungsgeschichtliche Kriterien zur Verfügung stehen, und daß uns die Färbung nur ein Hilfsmittel zur Aufdeckung derselben sein kann.

Als solche Kriterien können gelten:

- 1) Ein bestimmter Bau, wozu das Vorhandensein von einer Kernmembran (kann auch fehlen, dann ist aber eine mehr oder minder scharfe Abgrenzung gegen das Protoplasma vorhanden), von Kernsaft, Kerngerüst (Linin) mit eingestreuten färbbaren Körnern (Chromatin) und Nucleolus oder Karyosom gehört;
- 2) das Vorkommen einer Mitose, eventuell Amitose, oder die Auflösung des Kernes und Zerstreuung des Chromatins im Plasma in Form von Chromidien (Hertwig, Schaudinn) und Rekonstruktion eines typischen Kernes aus denselben eventuell nach Teilung der Zelle.

Derartige Kennzeichen liegen für die von Siegel als Kerne angesprochenen Gebilde seiner vermeintlichen Parasiten **nicht** vor. Mit den verschiedensten Färbemethoden gelang es Siegel ebensowenig wie uns, wohlstrukturierte Kerne darzustellen. Die sogenannten Kerne erscheinen nur als gefärbte Punkte oder Stäbchen, an denen nicht die geringste Spur eines feineren Baues nachgewiesen werden kann. Wenn es anständig wäre, allein auf Grund der Färbung eine bestimmte Aussage zu machen, so könnte man die gefärbten Körner höchstens für Chromidien, aber nicht für Kerne halten.

Auch entwicklungsgeschichtliche Kriterien sind nicht vorhanden. Denn aus der regelmäßigen Lage dieser gefärbten Körner oder Stäbchen kann doch nicht geschlossen werden, daß dieselben aus fortgesetzten typischen Kernteilungen hervorgegangen sind. Der Vorgang müßte ent-

weder am lebenden Objekt beobachtet oder wenigstens durch eine Reihe von aufeinander folgenden typischen Kernteilungsbildern wahrscheinlich gemacht werden.

Selbst wenn also die von Siegel beschriebenen Gebilde für die Vaccine (resp. akuten Exantheme) spezifisch wären, so kann doch der Beweis, daß es sich dabei um Parasiten, speziell Protozoen handelt, noch nicht als erbracht angesehen werden.

Daß die Art der Bewegung, die Geißelbeobachtung, die Größe und die starke Lichtbrechung nicht spezifisch für die von Siegel beschriebenen Körperchen sind, haben wir oben schon zu zeigen versucht. Es bleibt also hier nur der Bau, besonders die regelmäßige Anordnung der gefärbten Punkte (Kerne?) zu erörtern.

Was zunächst den Unterschied im Bau gegenüber den Hämokonien anlangt, so können wir die Angaben Siegels (45) nicht bestätigen. Bei der überaus großen Mannigfaltigkeit der Zerfallsprodukte des normalen Blutes — und als solche sind wohl die Hämokonien mit Arnold (3, 4) zum großen Teil aufzufassen — findet man im normalen Kaninchenblut in denselben nicht nur, wie Siegel (45) angibt, „nur mehr oder minder leuchtende splitterartige oder staubförmige Körperchen“, sondern öfters auch eine deutliche „Differenz von Kern und Plasma“, d. h. deutlich zählbare glänzende Körner (Kerne) in hellem Saum (Plasma). Auch Arnold hat bei der Plasmorrhaxis der Erythrocyten bei intra- wie extravaskulärer Beobachtung sowohl Gebilde mit staubförmigen Körnchen wie solche mit größeren glänzenden Körnern beschrieben. Bei der Färbung von normalem Blut haben wir nun genau so typische deutliche „Kernbilder“ bekommen, wie sie Siegel von den kleinsten Formen seiner Parasiten aus dem Blute vaccinierten Kaninchen beschrieben und abgebildet hat. So fanden wir sowohl sogenannte ein- wie zweikernige Formen. Bezüglich der ersteren sei bemerkt, daß tatsächlich Gebilde mit einem einzigen gefärbten Körnchen, wie es Siegel (37, 38) zuerst auch beschrieben hat, vorkommen, und daß nicht dieser Eindruck nur durch das nahe Aneinanderliegen von zwei Kernen vorgetäuscht wird. Letzteren Standpunkt vertritt Siegel (44 etc.) jetzt, er nimmt nun an, daß schon die jüngsten Formen stets zweikernig seien und beschreibt als charakteristisch dabei, daß der eine Kern häufig kleiner ist als der andere. Es scheint, daß er dabei an eine Homologie mit dem lokomotorischen Kern (Blepharoplast) der Trypanosomen gedacht hat, da dieser kleinere Kern an dem vorderen mit einer beweglichen Spitze oder Geißel ausgestatteten Pol sein soll. Derartige nach Siegel typische Gebilde mit kleinerem und größerem gefärbten Kern haben wir vielfach im normalen Blute gefunden (siehe Fig. 16).

Eine zweite Form, die Siegel für die Pocken beschreibt, ist ein hantelförmiges Gebilde. Auch solche finden sich im normalen Tier, wie aus Fig. 5, 16 ersichtlich ist. Auch die Bilder, wo die beiden Hälften dieser Doppelform in den verschiedensten Winkelstellungen, oft fast parallel, zu finden sind, und die Siegel als eine Längsteilung der jungen Parasiten deutet, kommen normalerweise zur Beobachtung.

In seiner letzten Mitteilung gibt nun Siegel (47) zu, daß die Kernbilder der kleineren Formen auch wohl, besonders wenn sie ganz einzeln liegen, einer zufälligen Aneinanderlagerung von Gewebspartikeln gleichen. Bei den größeren Formen sei ein solcher Zufall aus-

zuschließen und eine Diagnose daher nur bei einer größeren Anzahl größerer Formen zu stellen.

Diese größeren Formen von  $1\frac{1}{2}$ – $2\frac{1}{2}$   $\mu$  wurden beschrieben als Ei- und Kugelformen, vielfach in der Mitte wie Diplokokken eingeschnürt; andere, und dies soll etwas „sehr Charakteristisches für diese Parasiten“ sein, zeigen die Einschnürung ganz nahe dem einen Ende, so daß sie aussehen wie „stiellose Birnen, von denen der spitze Teil eingeschnürt wurde“ (vergl. hierzu Fig. 3 u. 4 aus lebendem normalen Blutpräparat). Die gefärbten Bilder sollen eine fortgesetzte Kernteilung zeigen, charakteristisch dabei sei eine von der 1. Längsteilung an auftretende Verschiebung der einzelnen Teile (Fig. 11, 13), sowie die ungleichzeitige Teilung der beiden primären Kerne (Fig. 12, 13, 14). Bei den weiteren Teilungsvorgängen würden dadurch die sonderbarsten Kernbilder hervorgerufen. Besonders charakteristisch sei hierbei, daß „ein Einschnitt nahe dem einen Ende stattfindet“ und die dadurch entstandenen zwei Kerngruppen sich auch weiterhin ungleichmäßig entwickeln.

Da für die eben geschilderten Entwicklungs- und Teilungsvorgänge kein Beweis vorliegt, daß die einzelnen Bilder tatsächlich auseinander hervorgehen und es sich dabei um Kerne handelt, kann es sich auch bei diesen größeren Formen gerade so gut um eine zufällige regelmäßige Aneinanderlagerung von Körnern handeln. Wir haben ganz dieselben Bilder aus dem Blut und Organsaft nicht vaccinierten Kaninchen gewonnen. In den Fig. 15–26 haben wir eine Reihe derartiger Bilder meist aus normalem Kaninchenblut nebeneinander gestellt. Dieselben stimmen sowohl mit unseren Bildern aus dem vaccinierten Blut (Fig. 11–14) wie mit den Beschreibungen und Abbildungen Siegels vollkommen überein und stellen dieselben Entwicklungs- und Teilungsbilder dar. Es sei hier noch betont, daß alle Zeichnungen auch im Farbenton möglichst genau den Präparaten entsprechen. Man sieht daraus, daß auch die Gebilde aus normalem Blut den gleichen tiefblauen Farbenton besitzen wie solche aus geimpften Tieren und umgekehrt in letzteren auch blaßblaue vorkommen<sup>1)</sup>.

Aus diesen Bildern geht zum mindesten klar hervor, daß auch bei größeren Formen eine zufällige regelmäßige Anordnung gefärbter Körner vorkommt, und es erscheint uns daher unmöglich, die Parasiten Siegels von normalen Blutbestandteilen (Zerfallsprodukten) zu unterscheiden. Uns dünkt daher der Schluß weit berechtigter, diese Gebilde durch die mannigfaltigen Bilder der Plasmorrhaxis der Erythrocyten (eventuell auch Leukocyten) zu erklären, als aus zufällig regelmäßigen Bildern die Entwicklung eines Protozoons zu konstruieren, für dessen Protozoennatur ein sicherer Beweis nicht erbracht ist.

Bezüglich der größten Formen von Siegel, deren Größe auf 3–5  $\mu$  angegeben wird und die als Sporulationskugeln gedeutet werden, ist eine Verwechslung mit normalem Blut resp. Gewebsbestandteilen in derselben Weise möglich. So ist nicht einzusehen, durch was sich z. B. die Sporulationsformen Fig. 20 u. 21 der Hauptarbeit von Siegel (38) von Blutplättchen oder Leukocytenresten unterscheiden sollen.

1) Auf der lithographischen Tafel sind die Unterschiede im Farbenton nicht herausgekommen.



Nun noch einige Worte über die Formen, die Siegel im Protoplasma der Nierenzellen gefunden und wenigstens in seiner vorläufigen Mitteilung (37) schematisch abgebildet hat. Da dieselben nach Siegel die gleichen Stadien vorstellen wie die Guarnierischen Körperchen in der Cornea, müßte man doch annehmen, daß es sich in den infizierten Nierenzellen um die bekannten Vaccinekörperchen handelt. Uns ist es indes trotz eifriger darauf gerichteter Untersuchungen nicht gelungen, in den Nierenzellen weder auf Schnitten noch Ausstrichen Guarnierische Körperchen aufzufinden. Wir haben daher auch kein Urteil, um was es sich bei den infizierten Nierenzellen Siegels handelt.

Wir haben noch die von uns im Filtrat von Organsäften und Blut gefundenen Formelemente (Versuch siehe vorher) anzuführen. Die Filtrate — sowohl das des infizierten wie das des nicht infizierten Kontrolltieres — sahen infolge Hämoglobingehaltes rötlich aus. In beiden fanden sich, wenn auch spärlich, im hängenden Tropfen und im gefärbten Präparat die beweglichen Körperchen (vergl. Fig. 20 u. 21). Zwischen beiden Filtraten war keinerlei Unterschied nachzuweisen. In den mit 1 ccm Filtrat beschickten Bouillonröhrchen (sowohl vom infizierten wie nicht infizierten Tiere) fanden sich die Gebilde nach einigen Tagen zahlreicher. Die vorher klare Bouillon war alsdann flockig getrübt. Man könnte die Entstehung der Körperchen auf das im Filtrat enthaltene Hämoglobin zurückführen. — In ähnlicher Weise ist auch wohl die Vermehrung der Körperchen im Brutschranke bei dem von Siegel angeführten, zum Zwecke von Spirochätenzüchtung ausgeführten Fickerschen und dem Siegelschen Zuchtungsversuch des Syphiliserregers zu erklären. Beide verwendeten ja Nährböden, in denen Blut enthalten war. Bonhoff (5) hat auch, wie bereits erwähnt, bei seinen vermeintlichen Züchtungen des Vaccineerregers ähnliche Gebilde bei den unbeimpften Kontrollen gefunden. Auch bei sterilem Blutagar lassen sich die Körperchen im Kondenswasser finden.

Ihr Vorkommen ist, wenn man ihre Herkunft von roten Blutkörperchen oder eventuell auch von sonstigen Zellen des Organismus ableitet, leicht anzugeben: Sie sind eben überall da, wo die genannten Elemente vorhanden sind (namentlich bei deren Zerfall). Wir haben beobachtet, daß dieselben bei manchen Menschen oder Tieren zahlreicher sind als bei anderen, was auch mit Beobachtungen von Arnold (3, 4) und H. F. Müller übereinstimmt. Die Zahl schwankt sogar in verschiedenen Präparaten von demselben Individuum. Der Grund hierfür ist vielleicht in der Technik der Herstellung der Präparate und dabei entstehenden mehr oder minder großen Schädigungen der roten Blutkörperchen etc. zu suchen.

Wohl bei allen fieberhaften Krankheiten, namentlich den infektiösen (so nach den Erfahrungen von Herrn Prof. Frosch namentlich bei Erysipel), finden Veränderungen des Blutes und seiner Zusammensetzung (wahrscheinlich chemischer Natur) statt. Daß hierbei die Zahl der Körperchen, namentlich auf dem Höhepunkte dieser Vorgänge, zunimmt, ist also leicht zu erklären, ebenso wie die Abnahme beim Abklingen der Krankheitserscheinungen. Besonders zahlreich fanden wir noch die Körperchen bei zum Zweck von Hämolysinbildung mit Blut einer anderen Tierart behandelten Kaninchen. — Sehr lehrreich sind die Untersuchungen von Justus (23) über die durch Syphilis bedingten Blutveränderungen, wobei die Einwirkung des Syphilisvirus auf die roten Blutkörperchen, speziell des Hämoglobins, nachgewiesen wird. Kaposi

wies in der Diskussion über die Losdorfferschen Befunde (26) darauf hin, daß auch schon von anderer Seite biochemische Eigentümlichkeiten des syphilitischen Blutes behauptet worden sind (V. Kongreß d. deutsch. dermatol. Gesellsch. in Graz 1895). Immerhin bleibt es auffallend, daß Siegel die Körperchen bei seinen Kontrolluntersuchungen nicht gefunden hat.

(Schluß folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Die Negrischen Körper und die durch fixes Virus verursachte Wutinfektion mit langsamem Verlaufe.

[Aus dem Institute für allgemeine Pathologie der kgl. Universität zu Bologna (Direktor: Prof. Guido Tizzoni).]

Von Dr. **Alessandro Bongiovanni**.

Uebersetzt von Dr. Kurt Tautz - Berlin.

Im März 1903 teilte Dr. A. Negri seine wichtige Entdeckung über die endocellulären Gebilde mit, die sich in den Zellen des Zentralnervensystems der wutkranken Tiere finden, und die er als einen für die Krankheit spezifischen Bestandteil ansah. Heute sind sie unter dem Namen ihres Entdeckers, als Negrische Körper, bekannt.

Diese Entdeckung hatte eine große Tragweite, denn sie war nicht nur für die Wissenschaft, nämlich für die Aufklärung der Aetiologie der Wut, von sehr großer Bedeutung, sondern war auch für die Praxis, d. h. für eine schnelle Diagnose der Krankheit bei den Tieren von großem Interesse. In der Tat waren wir durch diese Entdeckung in den Stand gesetzt, über das den Instituten zur Wutbekämpfung zugesandte Material ebenso sicher und dabei viel rascher ein Urteil abzugeben, als es sonst mit Hilfe des Experimentes geschehen konnte.

Die ersten Resultate, die Negri erhalten hatte, betrafen Hunde, die subdural mit Straßenvirus infiziert worden waren; später konnte er denselben Befund auch bei einem Kaninchen erheben, das mit demselben Virus infiziert und, wie der Hund, in einem Zeitraume gestorben war, der nicht weniger als 2 Wochen betrug.

Bei Tieren dagegen, die mit fixem Virus infiziert waren, das in 6—7 Tagen ihren Tod herbeiführte, hatte derselbe Autor ein negatives Resultat. Dies läßt sich dadurch erklären, daß in diesem Falle die Krankheit einen zu raschen Verlauf nahm und so die Zeit nicht ausreichte, um im Zentralnervensystem besondere Lokalisationen des Virus zu veranlassen, oder daß in diesen Lokalisationen das spezifische Element sich in einem gewissermaßen so jugendlichen Stadium und in einer so abweichenden Form befand, daß man es unmöglich mit den gewöhnlichen Färbungs- und Beobachtungsmethoden nachweisen konnte.

Später stellte Negri<sup>1)</sup> sehr sorgfältige Untersuchungen an einer großen Anzahl von Tieren, besonders Kaninchen, an und suchte so auch bei Infektionen mit fixem Virus die charakteristischen Körperchen der Wut nachzuweisen; und es gelang ihm in der Tat, auf Schnitten vom Ganglion Gasseri und von Spinalganglien die bekannten Gebilde fest-

1) Negri, A., Beitrag zum Studium der Aetiologie der Wut. (Boll. della Soc. Med. Chir. di Pavia, Sitzung vom 27. März 1903.)



zustellen, die man sonst bei Infektionen mit Straßenvirus trifft; allerdings waren sie viel spärlicher und viel kleiner, als man sie sonst im Zentralnervensystem beobachtet. Diese Untersuchungsergebnisse wurden gleich darauf kontrolliert und in weitestem Umfange in einer Arbeit von L. Luzzani<sup>1)</sup> bestätigt, in welcher man alle bis jetzt gemachten positiven Beobachtungen über diesen Gegenstand verzeichnet findet.

Nur über die Bedeutung der Negrischen Körper herrschen noch einige Meinungsverschiedenheiten; die einen halten sie für den spezifischen Erreger der Krankheit, die anderen sehen dagegen in ihnen nur das Produkt einfacher Zellveränderungen. Auf diese Fragen will ich aber nicht eingehen, da sie gar nicht im Rahmen meiner Untersuchungen liegen; diese beschränken sich vielmehr nur in ganz bescheidener Weise darauf, festzustellen, ob man im Zentralnervensystem den für die Wut typischen Befund auch in den Fällen erheben kann, wo die Krankheit durch fixes Virus hervorgerufen ist und langsam verläuft, also für das Experiment die günstigsten Bedingungen bietet. Man müßte die Körper aber finden können, wenn die Negrische Erklärung für das Fehlen dieser endocellulären Gebilde im Zentralnervensystem in den Fällen richtig wäre, wo die Infektion durch fixes Virus hervorgerufen ist, das, wie oben erwähnt, die Tiere in 6—7 Tagen tötet.

In der Tat kann man in diesem Falle nicht eine Verschiedenheit in der Natur des Virus zur Erklärung heranziehen, weil ja die Einheit der beiden Formen der Wut durch die Tatsache bewiesen ist, daß die durch das fixe Virus erzeugte Form sich direkt aus der anderen ableiten läßt, da das Straßenvirus infolge der wiederholten Passagen durch das Kaninchen eine Steigerung erfahren hat.

Das Material, dessen ich mich zu den vorliegenden Untersuchungen bediente, stammte ausschließlich aus den Versuchen, die ich in diesem Jahre gemeinsam mit meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Tizzoni, über die Wirkung der Radiumstrahlen bei der Wut ausgeführt habe. Hierbei bot sich mir manchmal gerade eine günstige Gelegenheit zur Untersuchung von Tieren, die trotz der Infektion mit fixem Virus Krankheitsformen mit langsamem Verlaufe zeigten, die durch die Länge der Inkubationszeit und das klinische Bild vollkommen denjenigen Formen glichen, denen man sonst nur bei Infektionen mit Straßenvirus begegnet.

Meine Versuchsobjekte wurden also durch denjenigen Teil der Radiumexperimente gebildet, bei denen infolge der Versuchsbedingungen selbst die Resultate unvollkommen waren; d. h. was absolute Heilung und Ueberleben der Tiere anbetrifft, so war nur eine mehr oder weniger große Verzögerung ihres Todes zu konstatieren.

In diesen Fällen, wo man sich in der Tat nicht auf die Negrische Hypothese berufen konnte, bestanden zweifellos für mich weniger günstige Bedingungen, um die charakteristischen sogenannten Negrischen Körperchen im Zentralnervensystem vom Kaninchen nachzuweisen, die mit fixem Virus infiziert worden waren.

Das Material zu meinen Versuchen rührte sowohl aus Experimenten *in vitro*, als auch aus Tierversuchen her, bei denen eine ungenügende

1) Luzzani, Abdruck aus dem Arch. per le scienze mediche. Vol. XXVIII. 1904.

Radiumdosis verwendet worden war, und zwar war die Unzulänglichkeit der Dosis entweder dadurch bedingt, daß die radioaktive Quelle eine zu geringe Intensität besaß, oder daß das Radium nur zu kurze Zeit appliziert worden war.

Nachdem die Tiere, wie gesagt, das für die Infektion mit Straßenvirus charakteristische Krankheitsbild gezeigt hatten, starben sie in einem Zeitraume, der zwischen 8 und 51 Tagen schwankte, während die Kontrolltiere konstant in 6—8 Tagen unter Symptomen starben, die man bei Infektionen mit fixem Virus gewöhnlich antrifft.

Und da die Krankheitserscheinungen, bei denen die starke und fortschreitende Abmagerung (Marasmus) die nervösen, paralytischen Symptome überwog, und ferner die lange Dauer des Krankheitsprozesses (8—10 Tage) Zweifel darüber bestehen lassen konnten, ob nicht vielleicht bei den ersten Tieren der Tod einfach eine Folge der Intoxikation und nicht der Infektion gewesen sein könnte, so hielt ich es für erforderlich, mich durch successive Passagen von Kopf zu Kopf darüber zu vergewissern, daß der Exitus letalis in diesen Fällen dem Wutvirus zuzuschreiben und in der Tat durch dessen infektiöse Elemente verursacht worden war.

Diese Experimente haben mir in der Tat immer positive Resultate ergeben; d. h. während bei der ersten Passage der Tod der Tiere mit einer Verzögerung eintrat, die aber geringer als bei den mit Radium behandelten Kaninchen war, wurden bei den darauf folgenden Passagen die Inkubationszeit und die Gesamtdauer der Krankheit immer kürzer, bis schließlich das Virus seine ursprüngliche Kraft erreicht hatte, mit der es bei subduraler Injektion in 7—8 Tagen den Tod herbeiführen konnte. Ebenso wandelte sich das Krankheitsbild, das bei der ersten Passage noch immer die Charakteristica der Infektion mit Straßenvirus zeigte, allmählich immer mehr in eine akute Form um, um dann rasch alle Eigentümlichkeiten einer durch fixes Virus bedingten Infektion anzunehmen.

Es wurde so, und zwar mit absoluter Sicherheit, bewiesen, daß es sich in den von mir studierten Fällen tatsächlich um Infektionen handelte, die durch fixes Virus hervorgerufen waren. Dieses Virus hatte das Radium durch seine zersetzende Wirkung abgeschwächt, ohne es jedoch infolge der besonderen Bedingungen, unter denen es appliziert worden war, völlig zerstört zu haben. Bei den Untersuchungen, die mit dem von diesen Tieren herrührenden Materiale angestellt waren, wurde nicht allein auf die charakteristischen, genügend großen Formen geachtet, die zuerst beim Hunde und Kaninchen nach Infektionen mit Straßenvirus nachgewiesen waren, sondern auch auf jene viel kleineren und weniger charakteristischen, die kürzlich Negri selbst in der Hirnrinde und im Ammonshorne von Rindern angetroffen hatte, die nach endocranialer Injektion von Straßenvirus an Wut gestorben waren; letztere Formen würden den Parasiten in Stadien vorstellen, die von den schon bekannten abweichen und sich bis jetzt ganz und gar der Beobachtung entzogen hätten<sup>1)</sup>.

1) Negri, A., Ueber die Aetiologie der Wut. Bemerkungen über die Morphologie und den Entwicklungskreis des spezifischen Parasiten. (Bull. delle Scienze Med. Chir. di Pavia. Mitt. vorgelegt in d. Sitz. vom 30. Juni 1905.)

### Untersuchungsmethode.

Gleich nach dem Tode des Tieres, dessen Nervensystem man untersuchen wollte, nahm man das Gehirn heraus und isolierte sorgfältig die Ammonshörner, ein Stückchen des Kleinhirns und in einigen Fällen noch die Gasserschen und einige Spinalganglien.

Diese Stücke wurden dann sofort nach der Isolierung in Zenkersche Flüssigkeit getan, nach 24 Stunden wieder herausgenommen, 12 Stunden lang in fließendem Wasser ausgewaschen und nach der üblichen Behandlung mit Alkohol, Xylol, Xylolparaffin eingebettet und mit dem Mikrotom in sehr dünne, 2—3  $\mu$  dicke Schnitte zerlegt.

Bei der Färbung der Schnitte wurden verschiedene Methoden angewandt:

1) Methode von Fasoli. Es hat sich gezeigt, daß sie zur Sichtbarmachung der Negrischen Körper sehr geeignet ist. Diese Färbungsmethode, welche ich in ihren Grundzügen wiedergebe, da sie noch nicht allgemein bekannt ist, besteht in folgenden Manipulationen, die es bei sehr sorgfältiger Handhabung ermöglichen, gute Präparate mit einer sehr deutlichen Differenzierung herzustellen<sup>1)</sup>.

a) Färbung der Schnitte in wässriger Eosinlösung, indem man sie leicht 5—10 Minuten lang erwärmt.

b) Auswaschen im Wasser.

c) Differenzierung mit einer Lösung von Aetznatron in absolutem Alkohol (4—5 Tropfen Aetznatron im 50 ccm Alkohol).

d) Auswaschen im Wasser.

e) Färbung in wässriger Methylenblaulösung.

f) Waschen in gewöhnlichem Alkohol 1—2 Minuten lang, Entwässern, Xylol, Kanadabalsam.

2) Färbung nach der jetzt allgemein bekannten Methode von Mann.

3) Färbung mit Ehrlichs saurem Hämatoxylin.

4) Färbung mit Heidenhains Eisenhämatoxylin.

Die mikroskopischen Beobachtungen wurden mit einer Immersionslinse von Reichert gemacht.

### Resultate.

1) Kaninchen. Subdurale Injektion von  $\frac{1}{10}$  einer 1-proz. Lösung von fixem Virus. Nach  $3\frac{1}{2}$  Tagen beginnt die Radiumbehandlung, als das Tier schon deutliche und ziemlich schwere Erscheinungen der Krankheit zeigt; man appliziert den Apparat im ganzen 18 Stunden lang auf das Auge, und zwar in zwei Sitzungen von je 12 und 6 Stunden Dauer. 8 Tage nach der Vornahme der Inokulation stirbt das Tier, d. h. 2 Tage später als das Kontrolltier, dessen Tod nach 6 Tagen erfolgt.

Dieser unvollkommene Erfolg der Behandlung ist durch die unzureichende Dauer der Radiumapplikation bedingt; denn durch weitere Untersuchungen ist gezeigt worden, daß in dieser Periode der Krankheit ( $3\frac{1}{2}$  Tage) und bei der von mir angewandten Radiumprobe (100 000 R.E.) eine Behandlung von 18 Stunden Dauer nur dann das Tier retten kann, wenn die Krankheit ein wenig langsamer verläuft und der Tod des Kontrolltieres in 7 anstatt in 6 Tagen eintritt<sup>2)</sup>.

1) Fasoli, G., Ueber die Färbung der Negrischen Körper bei der Wutinfektion. (Abdruck aus dem Policlinico. Vol. XI. 1902.)

2) Ich verweise hierbei auf eine meiner letzten, gemeinsam mit Prof. Tizzoni veröffentlichten Arbeiten: „Weiteres über die Behandlung der Wut mit Radiumstrahlen und deren Wirkungsmechanismus.“ Dem internationalen Kongreß für Radiologie und Ionisation zu Lüttich (September 1905) vorgelegt.

## Untersuchung auf Negrische Körper:

Methode von Fasoli	—	Gehirn	—	negativ
Methode von Mann	—	"	—	"
Saures Hämatoxylin	—	"	—	"
Eisenhämatoxylin	—	"	—	"

2) Kaninchen. Subdurale Injektion von  $\frac{1}{10}$  einer 1-proz. Lösung von fixem Virus. Sofort nach der Inokulation beginnt man mit der Radiumbehandlung, indem man dasselbe auf das Auge appliziert. Man bringt dabei das Büchsen mit dem Radium zwischen die Schenkel eines starken Magneten, um die  $\alpha$ - und  $\beta$ -Strahlen zu eliminieren, die bekanntlich von dem Magneten in entgegengesetztem Sinne, senkrecht zum magnetischen Felde abgelenkt werden, während die  $\gamma$ -Strahlen unbeeinflusst bleiben. Auf diese Weise will man untersuchen, welche von den drei Strahlenarten  $\alpha$ ,  $\beta$  oder  $\gamma$  vorwiegend bei der Behandlung der Wut wirksam sind.

Das Tier starb in 14 Tagen, also 7 Tage später als das Kontrolltier. In diesem Falle erklärt man sich den Tod durch die Ausschaltung der  $\alpha$ - und  $\beta$ -Strahlen, besonders der zweiten, weil diese am meisten aktiv sind und den Hauptanteil an der Zerstörung des Virus haben.

Für die Verzögerung des Todes könnte man ferner den Einfluß der  $\beta$ -Strahlen verantwortlich machen, und zwar aus folgendem Grunde. Diese Strahlen bilden natürlich bei ihrer Ablenkung mit dem durch die Pole des Magneten gehenden magnetischen Felde einen mehr oder weniger spitzen Winkel; haben sie dann eine Entfernung erreicht, in der die Wirkung des magnetischen Feldes sich nicht mehr fühlbar macht, so biegen sie in einem Kreisbogen wieder um und können nun, namentlich die in einem größeren Winkel abgelenkten, den Körper des Tieres wieder treffen und so durch ihre Wirkung die erwähnte Verzögerung des Todes herbeiführen.

So viel steht fest, daß, wenn man bei weiteren Experimenten mittels eines Bleischirmes verhinderte, daß diese Strahlen den Körper wieder treffen und ihre Wirkung auf das Wutvirus ausüben konnten, das Versuchstier zugleich mit dem Kontrolltier oder nur wenige Zeit später starb<sup>1)</sup>.

Wenn auch dieses Tier die charakteristischen Symptome der stillen (paralytischen Form) der Wut (Reizbarkeit, Gliederschwere, Somnolenz, Parese, Paralyse) gezeigt hatte, so habe ich doch, um mir ein ganz sicheres Urteil über die Natur der Krankheit zu verschaffen, einige subdurale Passagen mittels einer Rückenmarksemulsion vorgenommen; bei der ersten Passage starb das Kaninchen nach 14, bei der zweiten nach 8 Tagen.

## Untersuchung auf Negrische Körper:

Methode von Fasoli	—	Gehirn	—	negativ
Methode von Mann	—	"	—	"
Eisenhämatoxylin	—	"	—	"
Saures Hämatoxylin	—	"	—	"

3) Kaninchen. Injektion von  $\frac{1}{10}$  einer 1-proz. Lösung von fixem Virus in den N. ischiadicus. 20 Stunden nach der Injektion beginnt die Radiumbehandlung mit Applikation auf das Auge, und zwar in 8 Sitzungen von je einstündiger Dauer an 8 aufeinanderfolgenden Tagen.

Nach Verlauf von 20 Tagen starb das Tier, und zwar 7 Tage später

1) Vergl. auch für diese Versuche die oben erwähnte Arbeit.

als das Kontrolltier. Das unvollkommene Resultat in diesem Falle ist durch die Unzulänglichkeit der angewandten radioaktiven Quelle bedingt, welche infolge ihrer schwachen Kraft (10 000 R.E.) nur dann das Tier vom Tode zu retten vermag, wenn man mit der Behandlung 1 bis 10 Stunden nach der Vornahme der Infektion beginnt<sup>1)</sup>.

Das Tier starb, nachdem es alle Erscheinungen der paralytischen Form der Wut gezeigt hatte. Nach successiven Passagen von Kopf zu Kopf tritt der Tod des Kaninchens in 15 Tagen ein.

Untersuchung auf Negrische Körper:

Methode von Fasoli — Gehirn — negativ

Methode von Mann — " — "

Saures Hämatoxylin — " — "

Eisenhämatoxylin — " — "

4) Kaninchen. Injektion von  $\frac{1}{10}$  einer 1-proz. Lösung von fixem Virus in die vordere Augenkammer. Diese Lösung war vor der Injektion im Reagenzglas 1 Stunde lang den Radiumstrahlen ausgesetzt worden. Das Tier starb nach 17 Tagen, und zwar 9 Tage später als das Kontrolltier. An dem Mißerfolge dieses Experimentes ist ausschließlich der Umstand schuld, daß das Virus nur zu kurze Zeit den Radiumstrahlen ausgesetzt war; denn aus anderen Versuchen hatte sich ergeben, daß die geringste Expositionszeit, die unter denselben Bedingungen zur völligen Zerstörung des fixen Virus erforderlich ist, 2 Stunden beträgt.

Untersuchung auf Negrische Körper:

Methode von Fasoli — Gehirn — negativ

Methode von Mann — " — "

Saures Hämatoxylin — " — "

Eisenhämatoxylin — " — "

5) Kaninchen. Subdurale Injektion von  $\frac{1}{10}$  der gewöhnlichen Lösung des fixen Virus. Gleich nach der Vornahme der Infektion beginnt die Radiumbehandlung mit Applikation auf das Auge, und zwar in 8 Sitzungen von je einstündiger Dauer an 8 aufeinanderfolgenden Tagen. Auch in diesem Falle haben wir, um bei der Radiumbehandlung die Wirkung der  $\alpha$ - und  $\beta$ -Strahlen auszuschalten, dieselbe Versuchsanordnung wie im zweiten angewandt; es gelten daher hier dieselben Gründe, die wir in dem anderen Falle angeführt haben, um die Verzögerung im Eintritte des Todes des Tieres zu erklären, der 21 Tage nach der Infektion, und zwar 11 Tage später als beim Kontrolltiere eintrat.

Untersuchung auf Negrische Körper:

Methode von Fasoli — Gehirn — negativ

Methode von Mann — " — "

Saures Hämatoxylin — " — "

Eisenhämatoxylin — " — "

6) Kaninchen. Subdurale Injektion von  $\frac{1}{10}$  der gewöhnlichen 1-proz. Lösung von fixem Virus. Die Behandlung beginnt gleich nach der Vornahme der Infektion und wird 8 Stunden hintereinander fortgesetzt. Die  $\alpha$ -Strahlen werden hierbei durch Einschiebung eines 0,1 mm dicken Aluminiumschirmes zwischen Radium und Auge ausgeschaltet. In diesem Falle, wo die  $\alpha$ -Strahlen ausgeschaltet waren, konnte also das Radium nur mit seinen  $\beta$ - und  $\gamma$ -Strahlen eine Wirkung auf das Tier ausüben. Wie übrigens bewiesen ist, hält dieser Aluminiumschirm nicht nur alle

1) Vergl. die zweite Mitt. „Ueber die Behandlung der Wut mittels Radiumstrahlen“, der kgl. Akademie der Wissenschaften zu Bologna in der Sitz. vom 28. Mai 1905 vorgelegt.

$\alpha$ -Strahlen zurück, sondern absorbiert auch einen Teil der  $\beta$ -Strahlen, die ja am meisten aktiv sind. Aus diesem Grunde erwies sich im vorliegenden Falle eine Behandlung von 8 Stunden Dauer als unzureichend und das Tier starb in 23 Tagen, und zwar 16 Tage später als das Kontrolltier, dessen Tod am 7. Tage erfolgte.

**Untersuchung auf Negrische Körper:**

Methode von Fasoli	—	Gehirn	—	negativ
Methode von Mann	—	"	—	"
Saures Hämatoxylin	—	"	—	"
Eisenhämatoxylin	—	"	—	"

7) Kaninchen. Injektion von  $\frac{1}{10}$  einer 1-proz. Lösung von fixem Virus in die vordere Augenkammer. 12 Stunden nach der Vornahme der Infektion beginnt man mit der Radiumbehandlung, und zwar an 8 aufeinanderfolgenden Tagen täglich je 1 Stunde. Das Tier stirbt nach 40 Tagen, und zwar 33 Tage später als das Kontrolltier, dessen Tod am 7. Tage erfolgte.

An dem unvollkommenen Erfolge in diesem Falle ist die geringe Aktivität der Radiumprobe (10 000 R.E.) schuld, welche vermöge ihrer schwachen Strahlungen nur dann das Tier retten kann, wenn man sie spätestens 6 Stunden nach der Inokulation anwendet.

**Untersuchung auf Negrische Körper:**

Methode von Fasoli	—	Gehirn	—	negativ
Methode von Mann	—	"	—	"
Saures Hämatoxylin	—	"	—	"
Eisenhämatoxylin	—	"	—	"

Gassersche und Spinalganglien — negativ

8) Kaninchen. Subdurale Injektion von  $\frac{1}{10}$  der gewöhnlichen 1-proz. Lösung von fixem Virus. Gleich nach der Vornahme der Infektion beginnt man mit der Applikation auf das Auge und läßt das Radium dort 8 Stunden hintereinander einwirken. Das Tier starb in 51 Tagen, d. h. 45 Tage später als das Kontrolltier, dessen Tod in 6 Tagen erfolgte. In diesem Falle erklärt sich das unvollkommene Resultat durch den Gebrauch einer sehr schwachen Radiumprobe (10 000 R.E.), mit welcher man, wie bei anderen Experimenten gezeigt wurde, unter denselben Bedingungen nur dann vollkommene Resultate erzielt, wenn man sie fraktioniert anwendet, d. h. in 8 Sitzungen von täglich 1 Stunde Dauer.

**Untersuchung auf Negrische Körper:**

Methode von Fasoli	—	Gehirn	—	negativ
Methode von Mann	—	"	—	"
Saures Hämatoxylin	—	"	—	"
Eisenhämatoxylin	—	"	—	"

Es ergibt sich also aus dem Vorhergehenden, daß bei allen 8 mit den verschiedensten Methoden untersuchten Fällen, in denen die Tiere in einem Zeitraume zwischen 8 und 51 Tagen gestorben waren, sich weder im Gehirn, noch auch im Ganglion Gasseri und den Spinalganglien (wenigstens soweit man diese untersucht hatte) Negrische Körper nachweisen ließen.

Gegenüber diesen konstant negativen Fällen wollte ich sehen, ob man die Negrischen Körper vielleicht bei Kaninchen, die subdural mit Straßenvirus infiziert waren, nachweisen könnte, um auf diese Weise jeden Zweifel an dem Werte

und der Exaktheit meiner Untersuchungsmethode zu beseitigen.

Und in der Tat erfüllten in diesen Fällen die Resultate unsere Erwartungen. Denn bei allen Kaninchen, die mit Virus infiziert waren, das vom Hunde oder einer ersten Passage herrührte und in 20—22 Tagen den Tod der Tiere herbeiführte, ergaben die verschiedenen, in den vorangehenden Experimenten angewandten Färbungsmethoden konstant positive Befunde, indem aufs deutlichste das Vorhandensein der zuerst von Negri beschriebenen endocellulären Gebilde nachgewiesen werden konnte.

Dagegen erhielt man mit denselben Methoden ein negatives Resultat bei allen den Tieren, die nach subduraler Injektion von fixem Virus nicht irgend welcher Behandlung unterzogen und in 6—8 Tagen gestorben waren.

Nur in einigen Fällen erhielt man einen Befund, der auf den ersten Blick im Widerspruche mit den negativen Befunden der ersten Versuchsreihe zu stehen schien; ich meine nämlich diejenigen Fälle, in denen man den Tieren zuerst fixes Virus, welches im Reagenzglase den Strahlungen ausgesetzt war, injiziert und später dann Straßenvirus inokuliert hatte, um zu untersuchen, ob sie durch die erste Behandlung einen ausreichenden Grad von Immunität erworben hatten. Bei 2 Tieren waren die vaccinierenden Wirkungen der ersten Injektion unvollkommen; sie starben 31 und 32 Tage nach der Inokulation mit Straßenvirus, d. h. 4 resp. 11 Tage später als die Kontrolltiere, deren Tod 27 resp. 21 Tage nach der Infektion erfolgt war.

In diesen Fällen waren die vaccinierenden Wirkungen der ersten Injektion ausschließlich durch die ungenügende Wirkung des Radiums auf das fixe Virus (2 Stunden) bedingt, da durch andere Paralleluntersuchungen bewiesen worden war, daß man eine feste und vollkommene Immunität nur dann erzielen kann, wenn man das Radium eine längere Zeit hindurch (6—36 Stunden) auf dasselbe Virus einwirken läßt.

Bei diesen beiden Fällen ergab die Untersuchung des Zentralnervensystems auf Negrische Körper ein positives Resultat. Dies widerspricht nicht den früheren Resultaten, sondern bestätigt sie vielmehr, weil hierdurch bewiesen wird, daß diese Tiere nicht einem noch vorhandenen Reste von fixem Virus, das nicht durch das Radium zerlegt worden ist, erlegen sind, sondern daß die zweite, mit Straßenvirus ausgeführte Injektion ihren Tod herbeigeführt hat.

So wird man mittels des Nachweises von Negrischen Körpern entscheiden können, ob der Tod eines Tieres durch abgeschwächtes fixes Virus oder durch Straßenvirus herbeigeführt ist; und bei der Vaccination wird man erkennen können, ob der tödliche Ausgang eine Folge der unvollkommenen Zersetzung des als Vaccin gebrauchten fixen Virus oder durch die später mit Straßenvirus vorgenommene Probeinjektion bedingt ist. Im ersten Falle wird der Befund negativ sein, während die Inokulation von Kopf zu Kopf positiv ausfallen wird, im zweiten Falle wird sowohl der mikroskopische Befund als auch die Probe am Tiere ein positives Resultat ergeben.

#### Schlüsse und Betrachtungen.

Aus meinen Untersuchungen geht deutlich hervor, daß die besten Methoden, die man zum Nachweise der Negrischen Körper im Zentralnervensystem der an Straßenvirus gestorbenen Tiere hat, konstant ein

negatives Resultat bei Kaninchen geben, die mit fixem Virus infiziert worden sind: und zwar ist dies auch der Fall, wenn infolge ungenügender Behandlung der Tod viel später und unter gleichen Erscheinungen, wie sie bei der vorangehenden Infektion vorkommen, eintritt.

Dieses negative Ergebnis erhielt ich ferner sowohl für das Zentralnervensystem (Ammonshorn) als auch für die Gasser'schen und Spinalganglien, und zwar sowohl hinsichtlich der charakteristischen endocellulären zuerst bei Infektionen mit Straßenvirus beschriebenen Gebilde, als auch bezüglich jener kleineren Körper, die kürzlich von Negri bei mit Hundevirus inokulierten Rindern entdeckt sind, und die neue Stadien des bisher noch unbekannten Parasiten darstellen würden<sup>1)</sup>.

Man muß noch hinzufügen, daß diese Befunde so konstant sind, daß man bei Tieren, die zuerst mit abgeschwächtem Virus und dann mit Straßenvirus behandelt sind, leicht und ohne Zögern entscheiden kann, ob ihr Tod durch das erste oder das zweite Virus verursacht worden ist; in dem einen Falle fehlen nämlich die Negrischen Körper, im anderen dagegen kann man sie leicht nachweisen. Natürlich beabsichtige ich mit vorliegenden Untersuchungen — wie ich noch einmal wiederholen will — nicht im geringsten, die Spezifität und die parasitäre Natur der in Rede stehenden Körper anzugreifen, was ja übrigens in klarer Weise aus dem Ziele und Umfange meiner Untersuchungen hervorgeht. Ich glaube übrigens, behaupten zu können, daß zur Erklärung des negativen Befundes bei den durch fixes Virus bedingten Infektionen die von Negri aufgestellte Hypothese von der Schnelligkeit des Todes und dem äußerst stürmischen Verlaufe der Krankheit keine Gültigkeit mehr hat; denn man begegnet derselben Tatsache auch bei Infektionen, die durch dasselbe abgeschwächte Virus hervorgerufen sind und einen sehr langsamen Verlauf haben. Man muß daher annehmen, daß bei den durch fixes Virus verursachten Infektionen, wie auch ihr Verlauf sich gestalten mag, die endocellulären Gebilde fehlen, die bei den durch Straßenvirus bedingten Infektionen leicht und konstant nachzuweisen sind. Daraus wird man den Schluß ziehen müssen, daß bei der durch fixes Virus hervorgerufenen Wut diese Gebilde, die man bei der durch Straßenvirus verursachten beobachtet, entweder ganz und gar fehlen, oder daß die Entwicklungsphase des Parasiten bei der ersten Krankheitsform so völlig verschieden von der bei der zweiten ist, daß wir ihn bisher mit unseren Präparations- und Beobachtungsmethoden nicht haben entdecken können.

Um ferner zu beweisen, daß bei einer durch fixes Virus hervorgerufenen Infektion mit langsamem Verlaufe die Entwicklungsphase des Parasiten nicht etwa nur einfach durch die Radiumwirkung modifiziert worden ist, sondern daß ihr Verhalten in engem Zusammenhange mit der Natur der Infektion selbst steht, beabsichtige ich, durch weitere Experimente zu untersuchen, ob man auch bei einer durch Straßenvirus verursachten Wutinfektion in gleicher Weise negative Resultate erhält, wenn man eine Radiumbehandlung anwendet, die zu einer Heilung absolut unzulänglich ist, und bei der die Versuchstiere etwas später als die Kontrolltiere sterben.

In diesem Falle müßte man, vorausgesetzt, daß die Negrischen Körper in den Krankheitsformen mit natürlichem Verlaufe konstant zu

<sup>1)</sup> Negri, A., Ueber die Aetiologie der Wut. Bemerkungen über die Morphologie und über den Entwicklungskreis des spezifischen Erregers. (Loc. cit.)



finden sind, ohne weiteres annehmen, daß ihr Fehlen sowohl bei dieser als auch bei der durch fixes Virus verursachten Infektion durch eine Modifikation des Entwicklungskreises des Parasiten bedingt ist; für diese müßte man dann die Wirkung des Radium verantwortlich machen, die den Parasiten für unsere Beobachtungen unzugänglich machte.

Bologna, September 1905.

Nachdruck verboten.

## Die *Hymenolepis*-Arten der Vögel.

Von Dr. O. Fuhrmann, Académie Neuchâtel.

Mit 39 Figuren.

In nachfolgenden Zeilen sollen zunächst 17 neue Arten des Genus *Hymenolepis* beschrieben werden. Das Material zu dieser Untersuchung verdanke ich vor allem dem Wiener Hofmuseum, dann den Museen von Berlin und Stuttgart, deren Direktoren in liebreichster Weise mir die reichhaltigen helminthologischen Sammlungen zur Bestimmung übersandten.

Leider ist der Erhaltungszustand nur in einzelnen Fällen so, daß Schnittserien gemacht werden konnten, indem die betreffenden Cestoden fast alle leicht maceriert waren. Um so besser fielen aber die sorgfältig angefertigten Totalpräparate aus, welche die Anatomie klar erkennen ließen und so eine ziemlich genaue Beschreibung der neuen Arten ermöglichten.

In einem zweiten Teil soll auf Grund der Literatur und unserer Untersuchungen das viel umstrittene Genus *Hymenolepis* und seine Subgenera einer eingehenden Besprechung unterzogen werden, wobei ich auch eine Zusammenstellung der bis jetzt bei Vögeln bekannten Arten geben werde. In seiner großen Arbeit gibt Cohn<sup>1)</sup> 36 Arten an; ich glaube aber, daß mehr als 80 Vogeltänien in dieses Genus zu stellen sind.

### I. Siebzehn neue *Hymenolepis*-Arten.

#### *Hymenolepis lobata* n. sp.

Fig. 1.

Wirt: *Poecilonetta bahamensis* Catesby.

Geographische Verbreitung: Bahama, Antillen, ganz Südamerika.

Fundort: Brasilien, Hofmuseum in Wien. Glas No. 539 b.

Die Strobila zeigt eine Länge von 14 cm, bei einer maximalen Breite von 1 mm; dieselbe wird ganz allmählich und erst am Hinterende erreicht. Leider fehlt der Skolex. Die Genitalorgane münden in der Mitte der Länge der Glieder aus. Erst ca. 3 cm hinter dem Skolex sieht man ziemlich entwickelte männliche Geschlechtsorgane, dann erscheinen sofort auch die weiblichen und ca. 6 cm hinter dem Skolex sieht man die Eier im Uterus; aber am Hinterende des 14 cm langen Wurmes haben die Eier erst eine Schale, woraus zu schließen ist, daß dieser Cestode noch

1) Cohn, L., Zur Anatomie und Systematik der Vogelcestoden, (Nova Acta. Vol. LXXIX. 1901.)

länger wird. Beschreiben wir die Form und Größe der Organe eines Gliedes (0,8 mm breit und 0,25 mm lang), in welchem sowohl die männlichen als die weiblichen Organe gut entwickelt sind.

Die beiden Wassergefäßlängsstämme, von welchen das dorsale sehr eng ist, liegen direkt übereinander.

Der Cirrusbeutel ist keulenförmig, 0,2 mm lang und geht über dem Wassergefäßsystem durch, etwas ins innere Markparenchym. In seinem Innern findet sich eine große Vesicula seminalis, welche den Muskelsack fast vollständig ausfüllt. Was aber besonders charakteristisch ist, das ist ein kleiner Sacculus, der, im Cirrusbeutel gelegen, oft mit dem Cirrus ausgestülpt als kleine dunkelgefärbte, 0,01 mm große Papille der Basis des ausgestreckten Penis aufsitzt. Außerhalb des Cirrusbeutels liegt eine Vesicula seminalis externa von der Größe des Cirrusbeutels. Die drei Hoden liegen wie bei *Hymenolepis armata*. Auf der Seite des Cirrusbeutels ein Hoden (0,15 mm im Durchmesser), auf der entgegengesetzten zwei voreinander gelegen. Zwischen den 3 männlichen Geschlechtsdrüsen liegt der nur 0,28 mm breite, tiefe, gelappte, fächerförmige Keimstock, und hinter ihm der leicht gelappte, 0,1 mm breite Dotterstock. Die Vagina zeigt ein großes, leicht gebogenes, an beiden Enden sich verschmälernendes, von der Mitte bis zu den Wassergefäßlängsstämmen reichendes Receptaculum seminis. Gleich über den Exkretionsgefäßen verengt sich die Vagina auf eine kurze Strecke sehr stark, um dann als starkwandiger, muskulöser Kanal trichterförmig in die Genitalkloake zu münden. Der Uterus ist sackförmig und reichen seine seitlichen Teile über das Wassergefäßsystem hinaus. Die Oncosphäre hat einen Durchmesser von 0,016 mm.

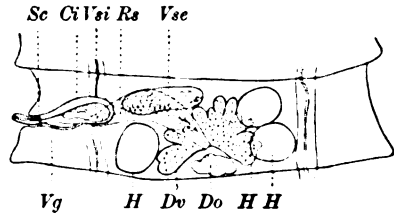


Fig. 1. *H. lobata*. Proglottis nach einem Totalpräparat gezeichnet. Ci Cirrusbeutel, Sc Sacculus accessorius, Vi Vesicula seminalis interna, Vse Vesicula seminalis externa, H Hoden, Vg Vagina, Rs Receptaculum seminis, O Ovarium, Do Dotterstock.

(Da in allen Figuren die oben bezeichneten Organe auf die gleiche Art gezeichnet sind, werde ich nur da, wo es mir nötig scheint, Bezeichnungen anführen.)

### *Hymenolepis armata* n. sp.

Fig. 2.

Wirt: *Columba gymnophthalma* Temm.

Geographische Verbreitung desselben: Curaco, Venezuela.

Fundort: Brasilien, Hofmuseum in Wien, Glas No. 488.

Die bis 3 cm langen Fragmente dieses Wurmes lassen auf eine Strobila von mindestens 5–7 cm Länge schließen; die größte Breite ist 1 mm. Leider fehlt der Skolex, doch ist die Anatomie deutlich von der der übrigen Cestoden der Tauben verschieden, so daß wir wohl sicher eine neue Art vor uns haben.

Im Parenchym der Strobila, namentlich im Rindenparenchym, finden sich zahlreiche, 0,004 mm große Kalkkörperchen.

Die Genitalorgane münden einseitig etwas vor der Mitte des seitlichen Proglottidenrandes aus. In jungen Gliedern, wo sich die männlichen Genitalorgane entwickeln, nehmen diese  $\frac{1}{3}$  der Breite der Glieder

ein, während später die Genitalorgane die Hälfte der Breite der Segmente ausfüllen.

Der männliche Genitalapparat besteht aus drei Hoden, von welchen zwei an der dem Genitalporus gegenüberliegenden Seite des Markparenchyms liegen, und zwar der eine vor dem anderen, der hintere mehr randwärts verschoben als der vordere (Fig. 2). Der dritte Testikel liegt am Hinderrande der Proglottis hinter dem inneren Ende des Cirrusbeutels.

Der Cirrusbeutel ist schlauchförmig, bei wohlentwickelten männlichen Organen 0,28 mm lang bei einem Durchmesser von 0,08 mm; in den letzten Proglottiden noch etwas länger, 0,39 mm. Der lange Cirrus ist dicht mit feinen Borsten besetzt. Bei ausgestrecktem Cirrus ist derselbe 0,28 mm lang bei einem Durchmesser von 0,03 mm, in diesem Falle ist die Penistasche nur



Fig. 2. *H. armata* n. sp. Totalpräparat.

0,15 mm lang. Am inneren Ende des Cirrusbeutels liegt in seinem Muskelsack eine kleine muskulöse, spindelförmige *Vesicula seminalis*.

Die weiblichen Geschlechtsdrüsen liegen in der Mitte der Strobila; das kaum gelappte Ovarium ist nur 0,24 mm breit, hinter ihm liegt der ovale 0,028 mm breite Dotterstock, der wegen der Kürze der Proglottiden das mediane Drittel des Keimstockes stark verengert, so daß der letztere in der Flächenansicht doppelt erscheint.

Die Vagina besitzt ein großes, 0,28 mm langes *Receptaculum seminis*, das von der Mitte des Hinterrandes schief nach dem Vorder- rand verläuft und sich dort als stark verengter, kurzer, leicht geschlungener Kanal in die weite, gerade, zum Rande verlaufende Vagina fortsetzt. Dieser Endteil der Vagina ist ebenso lang wie der Cirrusbeutel, und zeigt stellenweise leichte Erweiterungen. Die Vagina mündet direkt unter dem Cirrusbeutel in die flache Genitalkloake. Uterus sackförmig; keine reifen Eier.

### *Hymenolepis styloides* n. sp.

Fig. 3—5.

Wirt: *Vanellus aegypticus*<sup>1)</sup>.

Fundort: Aegypten. Museum in Berlin, Glas 2414.

Dieser kleine Cestode hat eine Länge von 2 cm bei einer Breite von 0,57 mm. Das Rostellum des Skolex trägt 10 Haken (Fig. 3), die 0,03 mm lang sind. Dieselben zeigen eine gewisse Ähnlichkeit mit den Haken von *Aploparaksis fringillarum* (Rud.).

Die Parenchymmuskulatur besteht aus inneren Transversalfasern, darauf folgen dorsal und ventral je 4 starke Längsbündel mit ca. 14—16 Fasern. Zu äußerst liegen zahlreiche kleine Längsmuskelbündel.

Die Geschlechtsorgane münden zwischen dem ersten und zweiten Drittel in eine ziemlich tiefe Genitalkloake. Der Cirrusbeutel (Fig. 5) ist langgestreckt, 0,016 mm lang und reicht bis zu den übereinander liegenden Längsgefäßen des Wassergefäßsystems. Die innere *Vesicula seminalis* kann den ganzen Durchmesser und die halbe Länge des Cirrusbeutels einnehmen. Der in den Cirrus umgewandelte dickwandigere

1) Dieser Artname scheint nicht zu existieren.

Teil des Vas deferens wird hinten durch 9–10 Muskelbänder festgehalten, die als Retraktoren sich am Hinterende des Cirrusbeutels fixieren. Außerhalb des Cirrusbeutels ist das Vas deferens zu einer langgestreckten Vesicula seminalis externa erweitert.

Von den 3 Hoden, die 0,1 mm im Durchmesser messen, liegen zwei hintereinander, der dritte an der poralen Seite des Markparenchyms am Hinterrande der Proglottis (siehe Fig. 4). Die weiblichen Geschlechtsdrüsen bestehen aus einem 0,16 mm breiten Ovarium und dem 0,08 mm breiten, hinter ihm gelegenen Dotterstock; beide sind sehr schwach gelappt. Das Receptaculum seminis ist sehr groß und reicht, fast die ganze Länge der Proglottis einnehmend, von den beiden seitlichen Hoden bis zu den Wassergefäßen der poralen Seite. Dort setzt es sich als enge Vagina unter dem Cirrusbeutel verlaufend zur Genitalkloake fort.



Fig. 3.

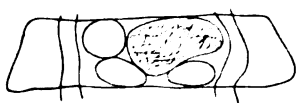


Fig. 4.

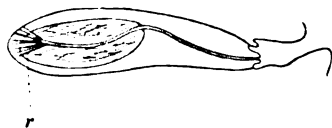


Fig. 5.

Fig. 3. *H. styloides* n. sp. Haken des Rostellums.

Fig. 4. *H. styloides* n. sp. Flächenschnitt, zeigt das große Receptaculum seminis.

Fig. 5. *H. styloides* n. sp. Cirrusbeutel mit Retraktor des Cirrus (r).

Die Hoden sowie das Receptaculum seminis bleiben auch in den Proglottiden, welche einen ganz von Eiern erfüllten Uterus haben, wohlentwickelt. In ganz reifen Gliedern aber streckt sich der sackförmige Uterus über die Längsstämme des Wassergefäßsystems hinaus und man sieht dann von den Geschlechtsorganen nur noch den Cirrusbeutel, die Vagina und das große Receptaculum seminis. Die Embryonen sind groß, 0,04 mm im Durchmesser messend, die äußere Hülle hat einen solchen von 0,048; die Embryonalhaken sind 0,018 mm lang.

### *Hymenolepis capillaroides* sp.

Fig. 6 und 7.

Wirt: *Podiceps dominicus* (L.).

Geographische Verbreitung desselben: Haiti, Jamaica, Cuba, Zentralamerika, Südamerika bis Patagonien.

Fundort: Brasilien, Hofmuseum in Wien, Glas No. 547, Museum in Berlin, Glas No. 2511.

Diese Art ist 3 cm lang und 0,4 mm breit, leider ist sie schlecht erhalten, so daß die Beschreibung eine nur unvollständige sein kann. Der kleine Skolex hat einen Durchmesser von 0,1 mm und Saugnäpfe, die 0,045 mm im Durchmesser messen. Das muskulöse Rostellum zeigt einen doppelten Muskelsack, der äußere 0,13 mm lang. Die 10 Haken sind ähnlich denjenigen von *H. capillaris*, aber doppelt so groß, sie messen 0,021 mm, mit einem Fußteil, der 0,014 mm breit ist (Fig. 6).

Die Wassergefäße teilen die Breite der Proglottis gerade in drei Teile, so daß sie also bei einem 0,21 mm breiten Gliede 0,07 mm vom Rande entfernt liegen. Die beiden Längsgefäße liegen übereinander.

Die Geschlechtsorgane münden in der Mitte des seitlichen Randes

der Strobila aus. Dieselben erscheinen 6,1 mm hinter dem Skolex und entwickeln sich sehr langsam. Der Cirrusbeutel ist schlauchförmig, 0,1 mm lang, reicht also über die Wassergefäße nach innen. Sein Inneres ist ganz von einer Vesicula seminalis erfüllt. Die Hoden sind so angeordnet, daß an der der Geschlechtsöffnung gegenüberliegenden Seite zwei Hoden, der eine vor dem anderen, liegen, während der dritte auf der poralen Seite sich findet. Der vorn gelegene Hoden zeigt in gewissen Proglottiden eine mehr seitliche Stellung, so daß es scheinen möchte, als liegen alle drei auf einer Linie, immer aber ist derselbe etwas weiter vom



Fig. 6.



Fig. 7.

Fig. 6. *H. capillaroides* n. sp. Haken des Rostellums.

Fig. 7. *H. capillaroides* n. sp. Totalpräparat, zeigt variable Disposition der Hoden.

Hinterrand des Gliedes entfernt (Fig. 7). Die weiblichen Geschlechtsorgane bestehen aus einem median gelegenen, kompakten, sehr kleinen Keimstock und Dotterstock. Der Uterus ist sackförmig und füllt das ganze Markparenchym aus.

Vielleicht ist diese Art nur eine großhakiige Varietät des die Tropen bewohnenden *Poriceps dominicus*. Leider ist die in nordischen *Podiceps*-Arten parasitierende *H. capillaris* nur sehr mangelhaft bekannt.

### *Hymenolepis flagellata* n. sp.

Fig. 8 und 9.

Wirt: *Poecilonetta bahamensis* Catesby.

Geographische Verbreitung: Bahama, Antillen, ganz Südamerika.

Fundort: Brasilien; Hofmuseum in Wien, Glas No. 539.

Diese charakteristische Form zeigt eine ziemlich variable Länge, indem es Exemplare gibt, die bei 2 cm Länge und  $\frac{3}{4}$  mm Breite ganz reif sind, während andere 4 cm lang und 1,5 mm breit werden. Leider fehlt der Skolex.

Betrachten wir zunächst die männlichen Geschlechtsorgane, so finden wir, daß in den großen wie den kleinen Exemplaren der im vorderen Drittel des Proglottidenrandes ausmündende Cirrusbeutel schlauchförmig und so lang ist, daß er über das Wassergefäßsystem hinaus ins Markparenchym dringt und dort die gegenüberliegenden Längsgefäße des Exkretionssystems erreicht, ja in einzelnen Fällen mit seinem Ende auf sie zu liegen kommt.

Seine Wandung ist sehr dünn und er ist ganz erfüllt von einer Vesicula seminalis interna. Wie zu erwarten, finden wir einem starken Retraktor des Cirrusbeutels. Der Cirrusbeutel wird bis 0,67 mm lang. Ueber seiner Ausmündungsstelle findet sich ein großer Saccus accessorius, der stark muskulös und von feinen Häkchen ausgekleidet ist. Sein Durchmesser ist 0,08—0,1 mm. Bei dem kleinen, kaum einen

Millimeter breiten Exemplar scheint er größer zu sein, als bei den großen Exemplaren und nimmt daselbst seitlich mehr als die Hälfte der Länge des Gliedes in Anspruch, ja, geht sogar über die Längsgefäße des Wassergefäßsystems hinaus. Unter dem inneren Ende des Cirrusbeutels liegt eine große Vesicula seminalis. Die drei Hoden liegen in der in Fig. 8 gezeichneten Weise, sie messen 0,14 mm im Durchmesser.

Die weiblichen Geschlechtsorgane bestehen aus einem großen gelappten Ovarium (in großen Exemplaren 0,48 mm breit) und einem kleinen (0,14 mm breiten) Dotterstock. Ganz typisch ist der Verlauf

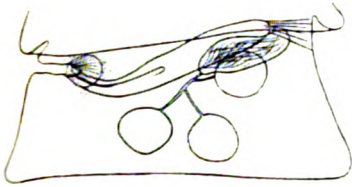


Fig. 8.

Fig. 8. *H. flagellata* n. sp. Totalpräparat, männliche Geschlechtsorgane.

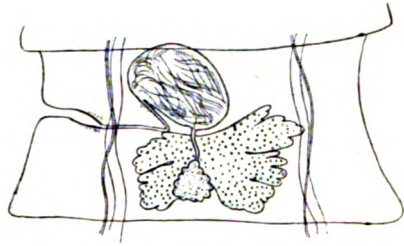


Fig. 9.

Fig. 9. *H. flagellata* n. sp. Totalpräparat, weibliche Geschlechtsorgane.

und die Konfiguration der Vagina. Das große Receptaculum seminis ist oval und liegt unter dem Cirrusbeutel und vor dem Keimstock. Austritt und Eintritt der Vagina in dasselbe sind sich stark genähert. Nach einer charakteristischen Biegung (Fig. 9) und nachdem sich die Vagina trichterförmig erweitert, ergießt sie sich unter dem Cirrus in die Genitalkloake.

In ganz reifen Proglottiden erfüllt der Uterus das ganze Markparenchym und geht über die Wassergefäße hinaus bis an den Rand. Er ist sackförmig und die ihn erfüllenden Oncosphären messen 0,016 mm im Durchmesser.

### *Hymenolepis papillata* n. sp.

Fig. 10 und 11.

Wirt: *Cairina moschata* (L.).

Geographische Verbreitung desselben: Tropisches Amerika. Fundort: Brasilien, Hofmuseum in Wien, Glas No. 536 und 537.

Es wird dieser Cestode bis 26 cm lang und 7 mm breit und zeigt dabei eine gewisse äußere Ähnlichkeit mit *H. lanceolata*. Leider fehlt auch hier der Skolex. Die Geschlechtsorgane erscheinen nicht weit hinter dem Skolex, und sind es die männlichen, welche sich zuerst anlegen und entwickeln.

Der schlauchförmige Cirrusbeutel ist 0,7 mm lang und nach dem Vorderrand des Gliedes gebogen. Er enthält ein spindelförmiges Receptaculum internum. Der Cirrus, der sehr dick (0,08 mm im Durchmesser), erscheint nur an seiner Basis bedornt. Hinter dem Penis mündet ein 0,1 mm im Durchmesser messender Sacculus accessorius in die Genitalkloake. Die Hoden liegen wie in der vorhergehenden Art und haben einen Durchmesser von 0,5 mm. In einzelnen Fällen kann der seitlich gelegene mittlere Hoden sich bis in die Mitte verschieben und liegt dann direkt über dem Ovarium.

In die tiefe, in der Mitte des Seitenrandes der Proglottis ausmündende Genitalkloake ergießt sich auf einer Papille die Vagina, welche vor dem Cirrusbeutel liegt. Sofort, innerhalb der übereinanderliegenden Längsgefäße des Exkretionssystems, erweitert sich dieselbe zu einem mächtigen Receptaculum seminis, das bis in die Mitte des Gliedes reicht und auch in ganz reifen Proglottiden bestehen bleibt.

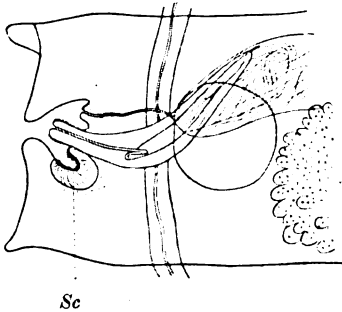


Fig. 10.

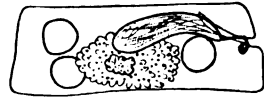


Fig. 11.

Fig. 10. *H. papillata* n. sp. Totalpräparat. Sc Sacculus accessorius.

Fig. 11. *H. papillata* n. sp. Totalpräparat.

Keimstock (1 mm breit) und Dotterstock (0,3 mm breit) sind sehr tief gelappt und setzen sich aus einer sehr großen Zahl von Zellschläuchen zusammen. Beide sind median gelegen. Der Uterus erfüllt die ganze Proglottis bis an den Rand. (Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

## Weitere Untersuchungen über den Mechanismus der Agglutination und Präzipitation.

### II. Teil.

[Aus dem k. k. hygienischen Institut der Jagellonischen Universität Krakau.  
Vorstand Prof. O. Bujwid.]

Von Dr. **Philipp Eisenberg**, Assistenten am Institut.

### 3. Ueber Agglutinationshemmung durch Proagglutinoide. Ueber die Reversibilität der Reaktion.

Wir treten nunmehr an die Beschreibung der Hemmungserscheinungen heran, deren tiefere Erkenntnis meines Erachtens für das Studium des Mechanismus der Agglutination von hervorragender Bedeutung ist. Das von Pick, Eisenberg und Volk, Asakawa beschriebene und sodann von zahlreichen Beobachtern bestätigte Phänomen wurde von Eisenberg und Volk durch die Proagglutinoidtheorie erklärt, die sodann von Müller und Verfasser auf die Präzipitationshemmung, von Kraus und von Pirquet auf die Koagulationshemmung übertragen wurde. Wenn ich nun heute auf diese Angelegenheit nochmals zurückkomme, so geschieht es deshalb, weil einerseits die Arbeit von Eisenberg und Volk, indem sie die prinzipielle Frage zu lösen suchte, viele andere unbeantwortet ließ, die ich auf Grund meiner neuen Versuche, sowie auf Grund zahlreicher neuerer Arbeiten anderer Forscher zu beantworten mich bestrebte, andererseits aber deshalb, weil diese Unter-

suchungen auch einige Aufschlüsse über einen für die Agglutinationsfrage höchst wichtigen Punkt, die Reversibilität der Reaktion zu geben versprochen. Da die Agglutinationshemmung mit dem Bau des Agglutinins eng zusammenhängt, müßte man eigentlich, sofern man die Bailsche Theorie akzeptiert, die Nomenklatur dementsprechend umändern. Ich tue dies deshalb nicht, weil ich, wie oben auseinandergesetzt, die Frage noch nicht für spruchreif halte und daher vorläufig kein Anstand vorliegt, die allgemein gebräuchlichen Benennungen bis auf weiteres zu verwenden. Die theoretischen Anschauungen über den Hemmungsprozeß würden übrigens keine wesentlichen Änderungen erfordern, wenn weitere Erfahrungen die Richtigkeit der Bailschen Anschauungen ergeben würden, und es ließe sich alles, was weiter ausgeführt werden soll, ohne Schwierigkeit dieser Theorie anpassen.

Wie bekannt, betreffen die ersten Beschreibungen des Hemmungsphänomens längere Zeit aufbewahrte Typhus-, Cholera und Dysenteriesera. In meinen neueren Untersuchungen konnte ich das Phänomen in verschiedener Deutlichkeit vielmals feststellen; es betraf zum Teil ausgetrocknete, zum Teil durch konservierende Zusätze oder Entwicklung von fluorisierenden resp. durch Fäulnisbakterien veränderte Sera. Die Wirkungsweise dieser Faktoren ist recht veränderlich und schwer berechenbar, so daß selbst, wenn man die Aufbewahrungsbedingungen eines Serums genau kennt, es schwer fallen dürfte, von vornherein zu bestimmen, welche Veränderungen an den spezifischen Stoffen des Serums vor sich gegangen sein dürften. Längere Zeit aufbewahrte Sera können eine geringe oder gar keine Hemmungszone aufweisen, während andere schon nach einer kurzen Zeit große Veränderungen erlitten haben. Aus meinen Versuchen, sowie aus denen von Shiga scheint hervorzugehen, daß Chloroformzusatz besonders leicht, das Erscheinen einer Hemmungszone zur Folge hat, sowie daß im Ruhrserum dieses Phänomen öfters auftritt, als im Typusserum, was sich gut mit der oben hervorgehobenen verschiedenen Empfindlichkeit diverser Agglutinine in derselben Serumart in Einklang bringen läßt. Außer den schon erwähnten Seris habe ich eine Hemmungszone an Kaninchenseris beobachtet, die auf *B. subtilis* Z., sowie *B. fluorescens putidum* Z. eingestellt waren und 15 resp. 7 Monate lang in zugeschmolzenen Glasröhrchen aufbewahrt wurden.

Tabelle XVIII. (Prot. No. 284. 13. Juni 1905.)

Serum von Kaninchen immunisiert mit *B. fluorescens put.* Z vom 13. Nov. 1904 eingeschmolzen inc. Glasröhrchen. Agaraufschw. von *B. fluor. put.* Z. Resultate nach 1 Std. (50° C), sowie nach 24 Std. (Zimmertemp.)

S. $\frac{1}{2}$	f. Fl.	u. v.	$\frac{1}{320}$	st. Fl. f. v.	v.
$\frac{1}{5}$	Fl.	u. v. +	$\frac{1}{640}$	st. Fl. f. v.	v.
$\frac{1}{10}$	st. Fl. Sp.	f. v.	$\frac{1}{1280}$	st. Fl. f. v.	v.
$\frac{1}{20}$	st. Fl. Sp.	f. v.	$\frac{1}{2560}$	st. Fl. f. v.	v.
$\frac{1}{40}$	st. Fl. st. Sp.	f. v.	$\frac{1}{5120}$	st. Fl. f. v.	v.
$\frac{1}{80}$	st. Fl. u. v.	f. v.	$\frac{1}{10240}$	Fl.	f. v.
$\frac{1}{160}$	st. Fl. f. v.	v.	C.	k.	k.

Auch bei der Mitagglutination tritt zuweilen eine Hemmungszone auf; ein auf den Shiga-Typus eingestelltes Ruhrserum, das eine Mitagglutination bis  $\frac{1}{450}$  für den Flexner-Typus zeigte, wies eine schwache Hemmung auf (daß Shiga unter ähnlichen Umständen seiner Zeit keine finden konnte, liegt vielleicht daran, daß er die Verdünnungen  $\frac{1}{2}$  und  $\frac{1}{5}$  nicht untersuchte). Endlich können auch Normalagglutinine nach längerer Aufbewahrung durch ihren Abbau die Hemmung ermöglichen, wie aus Tabelle XIX ersichtlich ist.



Tabelle XIX. (Prot. No. 8a. 20. Jan. 1902.)

Serum vom Pf. No. 9 mit Chloroformzusatz aufbewahrt; Agaraufschwemmung von B. coli aggl. I. Resultate nach 2 und 24 St.

S. $\frac{1}{1}$	schw. Sp.?	schw. Sp.?	$\frac{1}{70}$	schw. Sp.	Sp.
$\frac{1}{3}$	st. Sp.	st. Sp.	$\frac{1}{100}$	schw. Sp.	Sp.
$\frac{1}{3}$	st. Sp.	u. v.	$\frac{1}{200}$	k.	k.
$\frac{1}{50}$	st. Sp.	st. Sp.	C.	k.	k.

Eine besondere Beachtung verdienen sowohl aus theoretischen Gründen als auch mit Rücksicht auf die praktische Serodiagnostik die an frischen Seris beobachteten Hemmungserscheinungen. Eisenberg und Volk, Volk und de Waele, de Blasi und de Berardinis, Cerrito, Scheller, Sahli, Stern und Libman haben sie bei menschlichen und tierischen Typhuseris, Schottelius bei Paratyphuseris, Moser und Pirquet, Żeleński, Fischer und Jogichess bei Streptokokkenseris, Lipstein und Schwoner bei Diphtherieseris, Torrey bei Pseudodysenterieseris beschrieben. Ich selber habe sie zu wiederholten Malen bei Prüfung von menschlichen, Kaninchen- und Pferdetyphuseris beobachtet. Ein interessantes Resultat ergab die Prüfung von drei frisch aus Typhuskranken (aus Blut und Roseola) gezüchteten Typhusstämmen mittels Typhusserum von einem Patienten, sowie von einem immunisierten Kaninchen (Tabelle XX u. XXI).

Tabelle XX. (Prot. No. 24. 28. Nov. 1903.)

Serum vom Pat. Wngk. (St. Lazarus-Spital; Abt. v. Prof. Parenski, Männ. No. 37) vom 23. Nov. 1903. Agaraufschw. von B. typhi St.: Król-Blut, Wngk.-Blut, Wngk.-Ros.

Ser.-Verd.	St. Król-Bl.	St. Wngk.-Bl.	Sf. Wngk.-Ros.
$\frac{1}{10}$	f. Fl. Sp.?	st. Sp. f. v.	Sp. st. Sp.
$\frac{1}{15}$	f. Fl. Sp.?	st. Sp. f. v.	Sp. u. v.?
$\frac{1}{30}$	Sp.?	st. Sp. f. v.	Sp. f. v.
$\frac{1}{50}$	Sp.?	f. v. u. v.?	st. Sp. f. v.
$\frac{1}{75}$	st. Sp.	f. v. st. Sp.	u. v.?
$\frac{1}{100}$	Sp.	f. v. st. Sp.	st. Sp. v.
$\frac{1}{125}$	Sp.	f. v. st. Sp.	st. Sp. v.
$\frac{1}{150}$	Sp.	f. v. st. Sp.	Sp. f. v.
C	k.	k.	k.

Tabelle XXI. (Prot. No. 22. 26. Nov. 1903.)

Typhusserum vom Kan. No. 1. 27. Okt. 1903. Agaraufschw. v. B. typhi Z. Stämme: Wngk.-Blut, Wngk.-Ros., Król-Blut (zweite Generation von allen 3 Stämmen), Z (alter Laboratoriumstamm). Resultat nach 2 und 24 Std.

Ser.-Verd.	St. Wngk.-Bl.	St. Wngk.-Ros.	St. Król.-Bl.	St. Z.
$\frac{1}{2}$	u. v. ? f. v.	u. v. f. v.	f. Fl. u. v. ?	u. v. f. v.
$\frac{1}{4}$	u. v. ? f. v.	st. Sp. f. v.	Fl. u. v. ?	st. Sp. f. v.
$\frac{1}{10}$	f. v. v.	st. Sp. f. v.	st. Sp. f. v.	u. v. v.
$\frac{1}{20}$	f. v. v.	u. v. ? f. v.	u. v. v.	u. v. v.
$\frac{1}{100}$	f. v. v.	f. v. v.	f. v. v.	— —
$\frac{1}{300}$	f. v. v.	f. v. v.	f. v. v.	— —
$\frac{1}{300}$	st. Sp. f. v.	f. v. v.	f. v. v.	— —
$\frac{1}{400}$	f. v. v.	f. v. v.	u. v. ? v.	— —
$\frac{1}{600}$	f. v. v.	f. v. v.	u. v. ? v.	— —
$\frac{1}{1000}$	u. v. f. v.	u. v. f. v.	f. v. v.	— —
$\frac{1}{1500}$	u. v. f. v.	u. v. f. v.	u. v. ? v.	st. Sp. u. v.
$\frac{1}{2000}$	u. v. f. v.	u. v. f. v.	Sp. f. v.	st. Sp. u. v.
$\frac{1}{2500}$	u. v. f. v.	u. v. f. v.	Sp. f. v.	st. Sp. u. v.
$\frac{1}{3000}$	st. Sp. u. v.	st. Sp. u. v.	Sp. f. v.	f. Fl. u. v.
C	k. k.	k. k.	k. Sp.	k. k.

Aus diesen Versuchen folgt, daß verschiedene Stämme bei Verwendung desselben Serums Hemmungszonen von verschiedener Breite zeigen können, ja, daß sogar zwei aus demselben Kranken zu gleicher Zeit gezüchtete Stämme unter Umständen ein recht verschiedenes Verhalten an den Tag legen. Auf diesen Umstand haben schon Scheller, Lipschütz, Falta und Noeggerath aufmerksam gemacht, indem sie zu seiner Erklärung Differenzen im Rezeptorenapparat verschiedener Stämme heranzogen. Neben dieser Auffassungsweise wäre vielleicht noch eine andere Eventualität in Betracht zu ziehen. Wir wissen aus einer ganzen Reihe von Untersuchungen, daß Typhusbakterien wie auch manche andere unter gewissen Umständen sogenannte freien Rezeptoren abgeben können und daß diese Rezeptoren durch Bindung von Proagglutinoiden Hemmungszonen verringern oder sogar aufheben können. Es ist nun denkbar, daß auch unter normalen Kulturbedingungen und speziell beim Aufschwemmen der Bakterien in Kochsalzlösung solche Rezeptoren von den Zellen abgespalten werden und daß bei verschiedenen Stämmen die Menge der dabei frei werdenden Rezeptoren variiert, was natürlich die Ausdehnung der Hemmungszone beeinflussen müßte.

Außer spezifischen Seris können auch frische Normalsera bei der Agglutination von Typhus eine Hemmung aufweisen, so z. B. normale Pferde-, Kaninchen- und Hundesera (s. Tab. XXII).

Tabelle XXII. (Prot. No. 67. 3. Dez. 1903.)

Ser. vom Pferd No. 12. 30. Nov. 1903. Agarauflschw. v. B. typhi Z.  
nach 2 Std. 24 Std.

S. $\frac{1}{2}$	k.	u. v.
$\frac{1}{5}$	Sp.?	v.
$\frac{1}{10}$	st. Sp.	v.
$\frac{1}{15}$	Sp.	v.
$\frac{1}{30}$	Sp.	v.
C.	k.	k.

Fast konstanterweise tritt ferner eine Hemmungszone bei Einwirkung von normalen und Immunkaninchenseris auf Heubacillen und zwar auf verschiedene Stämme auf.

Tabelle XXIII. (Prot. No. 300a. 1. Juli 1905.)

Norm. Kan.-Ser. No. 3. 30. Juni 1905. B. subtilis St. P. S. II. Agarauflschw.  
nach  $\frac{1}{2}$  Std. (50°) 1 Std. (50°) 2 Std. (Z. T.)

S. $\frac{1}{5}$	Fl.	f. v.	f. v.
$\frac{1}{10}$	st. Fl.	f. v.	f. v.
$\frac{1}{20}$	sehr st. Fl.	f. v.	f. v.
$\frac{1}{40}$	sehr st. Fl. Sp.	f. v.	f. v.
$\frac{1}{75}$	sehr st. Fl. u. v.	f. v.	f. v.
$\frac{1}{100}$	st. Sp.	f. v.	f. v.
$\frac{1}{200}$	f. Fl.	st. Fl. Sp.	st. Fl. st. Sp.
C	k.	k.	k.

Tabelle XXIV. (Prot. No. 137. 21. März 1904.)

Kan.-Imm.-Ser. 21. März 1901. 8 Stunden nach dem Entbluten! B. subt.  
P. S. II. Agarauflschw.

nach 1 Std.		nach 1 Std.	
S. $\frac{1}{3}$	k.	S. $\frac{1}{150}$	v.
$\frac{1}{5}$	st. Sp.	$\frac{1}{800}$	v.
$\frac{1}{10}$	f. v.	$\frac{1}{600}$	f. v.
$\frac{1}{15}$	v.	$\frac{1}{1200}$	f. v.
$\frac{1}{30}$	v.	$\frac{1}{1800}$	u. v.
$\frac{1}{50}$	v.	$\frac{1}{1000}$	st. Sp.
$\frac{1}{75}$	v.	$\frac{1}{4500}$	f. Fl.
$\frac{1}{100}$	v.	$\frac{1}{9000}$	k.
C	k.		

Dieser Befund, daß bei einer bestimmten Bakterienart (ähnlich auch bei Streptokokken und Diphtheriebacillen) Hemmungszonen mit besonderer Vorliebe aufzutreten pflegen, scheint dafür zu sprechen, daß nicht nur der Zustand der Agglutinine im betreffenden Serum, sondern auch manche Eigenschaften der agglutinierbaren Substanz dafür verantwortlich zu machen sind, die natürlich bei verschiedenen Arten und, wie aus obigen Befunden hervorgeht, sogar bei verschiedenen Stämmen verschieden sein können.

Endlich seien noch Hemmungsreihen von einem frischen Cholera- und Ruhrserum wiedergegeben (36 resp. 48 Stunden nach dem Aderlaß untersucht). (Tab. XXV u. XXVI.)

Tabelle XXV. (Prot. No. 271. 5. Juni 1905.)

Ser. v. Pf. No. 44. 4. Juni 1905: 36 Std. nach dem Aderlaß. Agar-aufschw. v. *V. cholerae* as. St. Elizawetpol. Resultat nach 1 Std. (50%) — 2 Std. (50%) — 24 Std. (Z. T.).

S.	88	k.	k.	st. Sp.	S.	1/320	st. Fl. f. v.	v.	v.
	1/40	Fl.	Fl. st. Sp.	u. v. +		1/640	st. Fl. f. v.	v.	v.
	1/5	Fl. Sp.	Fl. u. v.	f. v.		1/1280	st. Fl. f. v.	v.	v.
	1/10	st. Fl. st. Sp.	Fl. f. v.	v.		1/2560	Fl. u. v.	f. v.	v.
	1/20	st. Fl. u. v.	Fl. f. v.	v.		1/5120	f. Fl. ?	Sp. ?	Sp.
	1/40	st. Fl. u. v.	v.	v.		1/10240	k.	k.	k.
	1/80	st. Fl. u. v.	v.	v.		C.	k.	k.	k.
	1/160	st. Fl. u. v.	v.	v.					

Tabelle XXVI. (Prot. No. 324. 7. Nov. 1905.)

Ruhrserum vom Pf. No. 24 (vor längerer Zeit mit Agarkulturen von *B. dysenteriae* St. Shiga und Flexner geimpft), 5. Nov. 1905 48 Std. nach dem Aderlaß. — Agar-aufschw. von *B. dysenteriae* St. Shiga (von Dr. K. Shiga) und St. Flexner (von Král). Resultat nach 1—2—3 Std. (50%) — 24 Std. (Z. T.).

Ser.-Verd.	St. Shiga				St. Flexner			
1/2	k.	Sp.	Sp.	v.	k.	Sp.	u. v.	v.
1/5	Sp.	v.	v.	v.	Sp.	v.	v.	v.
1/10	Sp.	v.	v.	v.	Sp.	v.	v.	v.
1/20	Sp.	v.	v.	v.	Sp.	v.	v.	v.
1/40	Fl. ?	u. v. +	v.	v.	Sp.	v.	v.	v.
1/80	Fl. ??	Sp.	st. Sp.	v.	Fl.	f. v.	v.	v.
1/160	k.	Sp.	st. Sp.	v.	k.	u. v.	f. v.	v.
1/320	k.	k.	Sp. ?	v.	k.	Sp. ?	Sp.	f. v.
1/640	k.	k.	k.	Sp.	k.	k.	k.	u. v. ?
1/1280	k.	k.	k.	Sp. ?	k.	k.	k.	Sp.
C.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.

Nach dieser Darstellung von Hemmungserscheinungen in diversen frischen Seris wird es sich wohl verlohnen, einige Worte der Natur dieser Erscheinung zu widmen, die für die Praxis der Serodiagnostik eine gewisse Bedeutung hat. Man hat es versucht, sie auf die Wirkung von sogenannten falschen Antiagglutininen zurückzuführen (Lipstein) oder aber von nicht voll entwickelten Agglutininen, denen die fällende Gruppe abgeht (Paltauf), oder von Abbauprodukten der Agglutinine im Tierkörper, deren fällende Gruppe zerstört würde (Volk und de Waele, Wassermann, Falta und Noeggerath) oder sie durch die Annahme zu erklären, daß manche Agglutinine auf gewisse Stämme als solche wirken, anderen gegenüber die Rolle von Agglutinoiden spielen (Scheller). Alle diese Erklärungsversuche stimmen darin überein, daß sie Körper postulieren, die sich mit den Bakterienrezeptoren wohl verbinden, nicht aber Agglutination hervorrufen können, indem sie diesen Körpern entweder überhaupt eine fällbare Gruppe als

Rezeptoren erster Ordnung absprechen (Lipstein) oder annehmen, daß diese Gruppe unentwickelt (Paltauf) oder abgebaut ist oder endlich, daß ihre spezifische Funktion manchen Stämmen gegenüber versagt (Scheller). Mir selber erscheint die Annahme eines Abbaus von Agglutininen zu Proagglutinoiden im Organismus am wahrscheinlichsten, da sie die einfachste ist, am besten mit unseren sonstigen Auffassungen in Einklang zu bringen ist und am wenigsten neue, experimentell nicht begründete Hilfsannahmen erfordert. Wir wissen ja, daß im Ablauf der Infektion oder Immunisierung der Gehalt des Blutes an Agglutininen kein konstanter ist, sondern eine Kurve mit auf- und absteigender, sowie Gipfelphase darstellt. Diese Kurve ist selbst in ihrer Gipfelphase als Resultante zweier gleichzeitig ablaufender Prozesse zu betrachten, einer Produktion und eines Abbaus des Agglutinins (Regeneration des Agglutinins nach Blutverlusten). Wir wissen, daß im Harn sehr selten aktive Agglutinine auftreten, es muß folglich im Organismus ein Abbau der Agglutinine stattfinden, der, nach den experimentellen Ergebnissen zu urteilen, durch die Phase der Proagglutinoide zur völligen Zerstörung der Agglutinine führt. Nach den Versuchen von Volk und de Waele, Falta und Noeggerath, sowie nach meinen eigenen verschwindet das Hemmungsphänomen frischer Sera, wenn man dieselben auf 55 bis 60° C erhitzt, erweist sich also als ausgesprochen thermolabil. Aus dieser Tatsache wurde, wie mir scheint, unrichtigerweise der Schluß gezogen, daß die Hemmungskörper der frischen Sera mit Proagglutinoiden nicht identisch sein können, denn sonst dürften sie bei dieser Temperatur nicht zerstört werden. Schon früher habe ich darauf aufmerksam gemacht, daß ihre Inaktivierung kein kritisch bei einem bestimmten Temperaturpunkt eintretender Vorgang ist, sondern daß sie langsam mit der Erhöhung der Temperatur fortschreitet, daß folglich das Agglutinin eines Serums als aus verschiedenen hitzeempfindlichen Anteilen bestehend zu betrachten ist. Das Experiment lehrt uns, daß in vitro schon bei 60° C in Typhusseris eine Hemmungszone aufzutreten beginnt, bei noch niedrigeren Temperaturen in manchen anderen Seris. Wir wissen ferner, daß durch Einwirkung anderer Faktoren bereits modifizierte Sera noch empfindlicher sein können und eventuell schon bei 50—60° C inaktiviert werden. Es wird wohl also nicht schwer fallen, sich vorzustellen, daß in den Seris sehr empfindliche Agglutininanteile vorkommen, die unter gewissen Umständen bereits im Tierkörper zu Proagglutinoiden umgewandelt werden und in diesem Zustand nun in vitro sich als thermolabil erweisen. Ihre Identifizierung mit dem thermolabilen Agglutinin von Joos (Falta und Noeggerath) dürfte auf kein ernsteres Hindernis stoßen, wenn auch die Temperatur, bei der nach Falta und Noeggerath die Hemmung im frischen Serum verschwindet, d. h. 55—56° C mit der Inaktivierungstemperatur des Joosschen thermolabilen Agglutinins, d. i. 62—63° C, nicht übereinstimmt. Ueberhaupt erscheint mir eine so strikte Abgrenzung der Agglutininanteile, wie Joos sie vornimmt, kaum durchführbar. Jedenfalls aber liegt meines Erachtens kein Grund vor, wegen der Thermolabilität der Hemmungskörper in frischen Seris ihre Identität mit den Proagglutinoiden zu bestreiten. Die Temperatur von 75° C, bei der Bail das Typhusserum inaktiviert, ist nur ein oberer Grenzwert, der dafür Gewähr bieten soll, daß alle Agglutininanteile inaktiviert worden sind, ist jedoch keineswegs eine kritische Temperatur für die diversen Anteile von verschiedener Empfindlichkeit. Die Be-

hauptung von Falta und Noeggerath (p. 164) „die Abstammung der Eisenberg-Voltzschen Proagglutinoide von den thermostabilen Agglutininen stehe wohl außer Frage“ ist also völlig ungerechtfertigt. Wie weiter unten gezeigt wird, verlieren die Proagglutinoide der Typhus-sera bei 75–80° C die Fähigkeit der Hemmung, d. h. sie hören auf, für unsere Nachweismethoden zu existieren; der Anfang dieser Umwandlung ist wahrscheinlich schon bei niedrigeren Temperaturgraden zu vermuten, läßt sich aber vorderhand nicht feststellen. Es ist nun gut denkbar, daß die empfindlichsten Agglutininanteile, im Organismus bereits zu Agglutinoiden umgewandelt, diese Veränderung schon bei viel niedrigerer Temperatur erleiden können. Für die Entstehung der Hemmungskörper durch die Umwandlung von Agglutininen im Organismus spricht die von Falta und Noeggerath erhobene Tatsache, daß Hemmungszonen meistens in späteren Krankheitsstadien entstehen oder sich vergrößern oder bei Hinzutreten von anderweitigen Erkrankungen, wobei natürlich die Bedingungen für einen gesteigerten Zerfall gegeben sind. Dafür scheinen auch die an Meerschweinchen ausgeführten Serumprüfungen von de Blasi und de Berardinis zu sprechen; die Hemmung erscheint meistens mehr oder minder deutlich in Seris, die 1 Tag nach neuerlicher Bakterieninjektion (bei schon immunisierten Tieren) erhalten wurden, während 3–11 Tage nachher das Serum keine Hemmung zeigt.

Die obigen Ausführungen betreffs der Entstehungsweise der Hemmung in frischen Seris können auch auf die Veränderungen Anwendung finden, die in den Seris *in vitro* vor sich gehen. Ich habe schon früher die Inkonzanz des Auftretens, der Hemmung hervorgehoben. Bei der Verschiedenartigkeit der Faktoren, die auf solche Sera einwirken, ist diese Tatsache sehr gut begreiflich. Eine schon bestehende Hemmungszone, die dem Abbau der empfindlichsten Agglutininanteile ihre Entstehung verdankt, kann bei weiterer Einwirkung der den Abbau bewirkenden Faktoren wieder verschwinden, wenn diese Faktoren die Affinität der haptophoren Gruppe herabsetzen oder diese Gruppe vernichten. Auf diese Weise kann ein Serum nach längerer Zeit eine Abnahme seines Wertes zeigen, ohne daß dabei eine Hemmung zum Vorschein kommt. Auf dieselbe Weise läßt sich eine Tatsache erklären, die mit Unrecht von Dreyer und Jex-Blake als Argument gegen die Proagglutinoidtheorie angeführt wird, daß nämlich beim Erhitzen der Sera die Ausdehnung der Hemmungszone dem Abbau des Agglutinins und der Abnahme des Serumwertes nicht entspricht. Wenn wir einen etappenweisen Abbau des Agglutinins annehmen, so werden z. B. bei 60–63° C die empfindlichsten Anteile zu Proagglutinoiden umgewandelt und es entsteht eine Hemmungszone; bei weiterer Erwärmung auf 63–65° C wird wohl ein weiterer Anteil zu Proagglutinoid umgewandelt, aber gleichzeitig kann das früher gebildete Proagglutinoid seine spezifische Hemmungsfunktion teilweise oder gänzlich einbüßen, es wird also die Hemmungszone entweder unverändert bleiben oder keine entsprechende Zunahme aufweisen. Die Möglichkeit eines solchen Verhaltens hat Scheller direkt nachgewiesen, dem es gelungen ist, durch behutsames Erwärmen eine bestehende Hemmungszone aufzuheben, ohne den Serumwert herabzusetzen.

Ich möchte endlich bemerken, daß für den Fall, daß die Bailsche Theorie sich bestätigen sollte, die Hemmung in frischen Seris auf eine Disproportion in der Menge der Zwischenkörper (Agglutinophore)

und Komplemente (Hemiagglutinine) zurückzuführen ist. Bail nimmt an, daß in frischen Seris meistens die letzteren im Ueberschuß vorhanden sind, es ließe sich jedoch nicht ausschließen, daß vielleicht in manchen Fällen der Organismus einen Ueberschuß an Zwischenkörpern produziert, ähnlich wie wir z. B. in bakteriziden und hämolytischen Immunseris einen Ueberschuß an Immunkörpern konstanterweise feststellen.

Für die Theorie der Agglutination hat aber eine bei weitem noch größere Bedeutung das Studium der experimentell erlangten Proagglutinoide und der durch dieselben hervorgerufenen Hemmung, da wir in diesem Fall die Versuchsbedingungen in unserer Macht haben und daher auch tiefer in den Mechanismus der Hemmung eindringen können. Die Untersuchungen von Eisenberg und Volk haben gezeigt, daß durch Zusatz von Säuren, Alkalien, Salzen, Harnstoff oder Formol, sowie durch Erhitzen der Sera das Auftreten von Hemmungszonen sich bewerkstelligen läßt. Dagegen konnten sie es nicht zu stande bringen, durch Zusammenwirken von inaktiviertem und aktivem Serum eine vollständige Agglutinationshemmung zu erreichen, höchstens wurde eine unvollständige erzielt. Erst Shiga ist dies beim Dysenterieserum gelungen, das sich überhaupt wegen der Leichtigkeit der Proagglutinoidbildung für solche Untersuchungen besonders eignet. Auch meine neueren Versuche scheiterten anfangs immer an der Unmöglichkeit, eine vollständige Hemmung zu erreichen, speziell wenn beide Sera gleichzeitig auf die Bakterien einwirkten, nicht aber, wie im Bailschen Versuch, zuerst das inaktivierte und dann erst das aktive. Erst nach vielem Probieren bin ich zu der Ueberzeugung gelangt, daß für das Mißlingen meiner Versuche die zu hohe Temperatur verantwortlich zu machen war, bei der ich nach Bails Vorschrift die Inaktivierung vornahm. Die Schwierigkeit beruht hier darauf, daß bei niedrigeren Temperaturgraden es selbst durch längeres Erhitzen nicht gelingen will, eine vollständige Inaktivierung herbeizuführen, bei höheren Graden aber die Hemmungsfähigkeit verloren geht. Typhusimmunserum vom Pferd, das in der Verdünnung  $\frac{1}{10}$  bei  $75^{\circ}\text{C}$  durch 1 Stunde erhitzt wird, hemmt die Agglutination nicht, weder wenn es mit aktivem Serum zugleich auf die Bakterien einwirkt, noch wenn es zuvor oder hernach zugesetzt wird (Tab. XXVII).

Tabelle XXVII. Prot. No. 14. 10. Nov. 1903.

Serum v. Pferd. No. 37. v. 7. Okt. 1903. Dasselbe verd.  $\frac{1}{10}$  erh. 1 Std.  $75^{\circ}\text{C}$ . Agar-aufschw. v. B. typhi Z. Resultat nach 2 u. 24 Std.

Tropfen				Aktiv. + erh. Ser. gleichzeitig		Erh. Ser. + Bakt; nach 20' Z. T. aktiv. Ser.		Aktiv. Ser. + Bakt. nach 20' Z. T. erh. Ser.	
Aktiv. Ser.	Erh. Ser.	Phys. NaCl	Bakt.-Aufschw.	2 Std.	24 Std.	2 Std.	24 Std.	2 Std.	24 Std.
$1 = \frac{1}{40}$	$1 = \frac{1}{400}$	35	4	f. v.	f. v.	f. v.	f. v.	f. v.	f. v.
$1 = \frac{1}{40}$	$2 = \frac{1}{200}$	33	4	f. v.	f. v.	f. v.	f. v.	f. v.	f. v.
$1 = \frac{1}{40}$	$5 = \frac{1}{80}$	30	4	f. v.	f. v.	f. v.	f. v.	f. v.	f. v.
$1 = \frac{1}{40}$	$10 = \frac{1}{40}$	25	4	f. v.	f. v.	f. v.	f. v.	f. v.	f. v.
$1 = \frac{1}{40}$	$20 = \frac{1}{20}$	15	4	f. v.	f. v.	f. v.	f. v.	f. v.	f. v.
$1 = \frac{1}{40}$	$35 = \frac{1}{80}$	0	4	f. v.?	f. v.?	f. v.?	f. v.?	f. v.?	f. v.?
$1 = \frac{1}{40}$	0	34	4	f. v.	f. v.	—	—	—	—
0	35	1	4	k.	k.	—	—	—	—
0	0	36	4	k.	k.	—	—	—	—

Erst die Verwendung von Typhusserum, das wegen des Chloroformzusatzes oder durch Einwirkung von proteolytischen Bakterien bei 62

bis 63° C inaktiviert werden konnte, gab deutliche Resultate, die sich für eine exaktere quantitative Analyse eignen, wie sie weiter unten dargestellt wird. Ich habe schon oben erwähnt, daß das Typhusagglutinin im Kaninchenserum widerstandsfähiger ist, als im Pferdeserum und dementsprechend hemmt auch bei 75° C inaktiviertes Kaninchenserum ganz deutlich, wie Tabelle XXX zeigt, während bei derselben Temperatur inaktiviertes Pferdeserum nur in stärksten Konzentrationen eine Spur von Hemmung zeigt und auch bei 72° C inaktiviertes nur schwach hemmt (Tab. XXVIII u. XXIX).

Tabelle XXVIII. (Prot. No. 57. 1. Jan. 1904.)

Serum v. Pferd No. 37. 30. Nov. 1903. Dasselbe 1 Std. auf 75° C erhitzt (Verd.  $\frac{1}{10}$ ). Agaraufschw. v. B. typhi Z. Bakterien erh. Ser. 2 Std. bei 42°, sodann bis 24 Std. bei Zimmertemp., sodann wird zu jedem Röhrchen aktives Serum 1 Tr. =  $\frac{1}{3000}$  zugesetzt und das Resultat nach 2 und 24 Std. aufgenommen.

	n. 2 St.	n. 24 St.	n. 2 St.	n. 24 St.
Erh. Ser. $\frac{1}{10}$	k.	k.	u. v.?	u. v.
$\frac{1}{20}$	k.	k.	u. v.?	u. v.
$\frac{1}{50}$	k.	k.	u. v.	f. v.
$\frac{1}{100}$	k.	k.	u. v.	f. v.
$\frac{1}{150}$	k.	k.	u. v.	f. v.
$\frac{1}{300}$	k.	k.	u. v.	f. v.
$\frac{1}{600}$	k.	k.	u. v.	f. v.
$\frac{1}{1000}$	k.	k.	u. v.	f. v.
$\frac{1}{2000}$	k.	akt. Ser.	u. v.	f. v.
$\frac{1}{4000}$	k.	k.	u. v.	f. v.
C	k.	+	u. v.	f. v.

Tabelle XXIX. (Prot. No. 75. 5. Jan. 1904.)

Versuchsordnung wie in Tab. XXVIII, nur ist das Ser.  $\frac{1}{2}$  Std. auf 72° C erhitzt (Verd.  $\frac{1}{3}$ ).

	n. 2 St.	n. 24 St.	n. 2 St.	n. 24 St.
Erh. Ser. $\frac{1}{3}$	k.	k.	k.	Sp.
$\frac{1}{15}$	k.	k.	Sp.?	st. Sp.
$\frac{1}{30}$	k.	k.	Sp.?	st. Sp.
$\frac{1}{90}$	k.	k.	Fl.	u. v.?
$\frac{1}{180}$	k.	k.	Fl.	u. v.?
$\frac{1}{450}$	k.	k.	st. Sp.	u. v.
$\frac{1}{900}$	k.	k.	st. Sp.	u. v.
$\frac{1}{1000}$	k.	k.	u. v.?	u. v. +
$\frac{1}{2250}$	k.	k.	u. v.?	u. v. +
$\frac{1}{4500}$	k.	k.	u. v.?	u. v. +
C	k.	k.		

Tabelle XXX. (Prot. No. 204. 24. März 1905.)

Typhusserum v. Kan. b. 29. Jan. 1904 45 Min. auf 75° C erh. (Verd.  $\frac{1}{3}$ ) stark opalisierend. Typhusserum vom Pf. No. 11. 1904 nicht erhitzt. Agaraufschw. von B. typhi Z. Bakterien + erh. Ser. 24 Std. bei Zimmertemp., sodann wird zu jedem Röhrchen aktives Serum 1 Tr. =  $\frac{1}{40000}$  zugesetzt und das Resultat nach weiteren 24 Std. aufgenommen.

	n. 24 Std.	n. 24 Std.
Erh. Ser. $\frac{1}{10}$	k.	k.
$\frac{1}{20}$	k.	k.
$\frac{1}{40}$	k.	k.
$\frac{1}{80}$	k.	k.
$\frac{1}{160}$	k.	k.
$\frac{1}{320}$	k.	k.
$\frac{1}{640}$	k.	st. Sp.
$\frac{1}{1280}$	k.	u. v.
C	+	u. v.

Auf diese größere Resistenz des Kaninchentyphusserums sind wahrscheinlich die positiven Hemmungsergebnisse in den Versuchen von Bail

zurückzuführen. Ein ähnliches Verhalten wie das Typhusserum bietet auch das Ruhrserum vom Pferd. Dieses einige Monate mit 0,5-proz. Karbolzusatz aufbewahrte Serum gibt bei 60° inaktiviert eine deutliche Hemmung, während bei Verwendung desselben Serums aber bei 72° C. inaktiviert nur eine unbedeutende Verzögerung der Agglutination in den Proben zu verzeichnen ist, wo das erhitzte Serum in starker Konzentration eingewirkt hat (Tab. XXXI).

Tabelle XXXI. (Prot. No. 160, 160a. 13. Febr. 1904.)

Ruhrserum a. d. Labor. L. W. Gans. Dasselbe 1 Std. auf 60° C resp. 72° C (Verd. 1/2) erhitzt. Agaraufschw. von *B. dysenteriae* St. Krakau (von Prof. J. Raczyński).  
A Ser. erh. auf 60°. B Ser. erh. auf 72°. C Kontrolle.

	Tropfen				Resultat u.	
	Erh. Serum	Aktiv. Serum	Physiol. NaCl	Bakt.-Aufschw.	3 Std.	24 Std.
A	2 = 1/15	10 = 1/3	3	15	st. Sp.	u. v.
	2 = 1/15	6 = 1/5	7	15	k.	Sp.
	2 = 1/15	3 = 1/10	10	15	k.	k.
	2 = 1/15	1 = 1/30	12	15	k.	k.
	2 = 1/15	8 = 1/120	5	15	k.	k.
	2 = 1/15	4 = 1/725	9	15	k.	k.
	2 = 1/15	2 = 1/450	11	15	k.	k.
	2 = 1/15	1 = 1/900	12	15	k.	k.
B	28 = 1/8	1 = 1/900	0	15	Sp.	v.
	15 = 1/16	1 = 1/900	0	15	st. Sp. Fl.	v.
	8 = 1/30	1 = 1/900	6	15	st. Sp. Fl.	v.
	4 = 1/60	1 = 1/900	10	15	st. Sp. Fl.	v.
	2 = 1/120	1 = 1/900	12	15	u. v. Fl.	v.
	1 = 1/240	1 = 1/900	13	15	u. v. Fl.	v.
C	0	1 = 1/900	14	15	u. v. Fl.	v.
	0	0	15	15	k.	k.

In ähnlicher Weise hat Shiga mit einem durch 3 Stunden auf 65° C erhitzten Pferde Ruhrserum positive Resultate erlangt.

(Fortsetzung folgt.)

Nachdruck verboten.

## Ueber natürliche Wachstumshemmung der Bakterien.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Utrecht.]

### Zweite Mitteilung.

Von Prof. Dr. C. Eijkman.

Es haben vor kurzem Conradi und Kurpjuweit<sup>1)</sup> Untersuchungen mitgeteilt über bakterielle Hemmungsstoffe in Kulturen und in Faeces, die, wie sie selbst angeben, an Beobachtungen von mir über diesen Gegenstand<sup>2)</sup> anknüpfen und geeignet wären, diese in mehreren Punkten zu erweitern und zu korrigieren. Obwohl es einem Forscher nur willkommen sein kann, wenn seine Befunde auf Andere anregend wirken und als grundlegend anerkannt werden, so sehe ich mich doch veranlaßt,

1) Münch. med. Woch. 1905. No. 37, 45 u. 46.

2) Diese Zeitschrift Bd. XXXIV.



gegen die genannten Autoren Stellung zu nehmen, weil es mir vorkommen will, daß sie sich auf einem Irrwege befinden und in ihrem wissenschaftlichen Enthusiasmus die Tragweite ihrer Untersuchungen überschätzen. Eine etwas mehr nüchterne Beobachtung der Tatsachen erscheint mir hier am Platze zu sein.

Meine Beobachtungen hatten mich zu der Annahme geführt, daß die Bakterien thermolabile, wachstumshemmende Stoffe bilden, die diffusibel sind, aber Porzellanfilter nicht oder nur in geringem Maße zu passieren vermögen. Es bezog sich dies auf Kulturen in (bezw. auf) Nähragar und Nährgelatine. Auch in Faeces müßten, nach meinen Befunden, solche Stoffe vorhanden sein. Dahingegen gelang es mir nicht, sie in Bouillonkulturen nachzuweisen und durch Zentrifugieren von den Bakterien zu trennen.

Conradi und Kurpjuweit aber bemängeln an meiner Versuchsmethode die ausschließliche Anwendung von kolloidalen Substraten, denn, so sagen sie, bei Kolloidkörpern, wie Agar und Gelatine, sind die Absorptionerscheinungen derart ausgeprägt, daß absorbierte Substanzen nur unvollkommen ihre Eigenschaften zu entfalten vermögen.

Diese sehr allgemein gehaltene und rein theoretische Voraussetzung erscheint aber für unseren speziellen Fall weniger angebracht angesichts der Tatsache, daß es mir gerade bei Anwendung von Agar und Gelatine gelang, die Entwicklungshemmung nachzuweisen und daß C. und K. nur bei einem unter einer Anzahl von ihnen absichtlich daraufhin untersuchten Kolloidkörper, nämlich bei Dextrin, eine Aufhebung der Hemmungswirkung konstatieren konnten. Ja, sogar die „neue Methodik“, deren sie sich bedienen, um die Hemmungsstoffe in Bouillonkulturen nachzuweisen, läuft doch schließlich wieder auf die Verwendung eines der so verpönten Kolloidkörper, des Nähragars, hinaus. Es wurden nämlich fallende Mengen der Bouillonkultur in entsprechende Mengen 2-proz., auf 40° abgekühlten Nähragar eingetragen, die stets 10 ccm enthaltenden Mischungen in Petri-Schalen zu Platten verarbeitet und hierauf Strichkulturen angelegt. Dann wurden die Platten 48 Stunden der Brutwärme von 37° ausgesetzt und nun beobachtet. Sie fanden bei Versuchen mit Coli-Bouillonkulturen von 1, 4 u. s. w. Stunden Alter, daß die Wachstumshemmung nach etwa 24 Stunden ihren Höhepunkt erreicht und daß dieselbe dann in Verdünnung sogar bis 1:400 (gemeint ist die Verdünnung mit Nähragar) noch eine absolute ist. Ebenso wie bei meinen Versuchen stellte sich auch hier heraus, daß die Wachstumshemmung durch vorherige Erhitzung der Agarmischung aufgehoben wurde.

Es fragt sich nun, ob man berechtigt ist, aus diesen Versuchen von C. und K. ohne weiteres auf das Vorkommen von thermolabilen Hemmungsstoffen in den Coli-Bouillonkulturen zu schließen. Man darf ja nicht aus den Augen lassen, daß mit der Bouillon auch Bakterien in den Agar hineingebracht werden und daß die besagten Hemmungsstoffe mithin erst bei der Aufbewahrung der Platte im Brutofen gebildet sein könnten. Auch ich hatte ähnliche Versuche angestellt und mit gleichem Resultat, wie C. und K., glaubte aber, weil ich die Wachstumshemmung ebensogut konstatieren konnte, falls lediglich Bakterien, also ohne Bouillon, mit dem Nähragar vermischt worden waren, daraus nicht sogleich den Schluß ziehen zu dürfen, daß die thermolabilen Hemmungsstoffe bereits in der Bouillonkultur vorgebildet waren. Schon eine Beobachtung der genannten Autoren selbst scheint mir dagegen zu sprechen. Wenn dieselben nämlich eine wirksame Bouillonkultur, selbst in großen Mengen, auf die

Oberfläche einer Agarplatte brachten, die Flüssigkeit verdunsten ließen und hiernach die Oberfläche der Platte impften, so wurde jede Hemmungswirkung vermißt. Sie erklären sich die Sache so, daß die Wachstumshemmung nur auftritt bei jener gleichmäßigen Verteilung der Hemmungsstoffe im Nähragar, wie sie lediglich durch das Plattengießen gewährleistet werden kann. Eine solche Erklärung kann ich aber nicht gelten lassen, weil nicht einzusehen ist, warum die nach meiner Erfahrung sehr gut diffusiblen Hemmungsstoffe bei der erwähnten Versuchsanordnung nicht an allen Stellen der Agaroberfläche gleich gut hineingedrungen sein sollten. Was aber nicht so leicht eindringt, das sind die Bakterien und so erklärt sich ungezwungen der Unterschied mit der ersten Versuchsanordnung der Autoren, wobei die Bouillonkultur mit dem Agar gemischt, anstatt darüber ausgegossen worden war.

Vollends beweisend für meine Auffassung, daß es in Bouillon nicht so leicht zu einer kräftigen Bildung der besagten Hemmungsstoffe kommt, sondern daß dieselbe erst nachträglich im Agar von den hineingebrachten Bakterien hervorgerufen wird, scheint mir folgendes zu sein. Es wurden von mir Parallelversuche angestellt, wobei einerseits fallende Mengen einer Coli-Bouillonkultur als solche, andererseits dieselbe Bouillonkultur, die aber durch Zentrifugieren von dem größten Teil der Bakterien befreit war, in Nähragar eintragen und zu Platten gegossen wurden.

Das Ergebnis der Impfung dieser Platten läßt sich dahin zusammenfassen, daß, während in der ersten Versuchsreihe die Hemmung bei einer Verdünnung von 1:400 noch nachweisbar und bei 1:70 für das Oberflächenwachstum eine absolute war, dahingegen in der zweiten Versuchsreihe sogar noch bei einer Verdünnung von 1:1 unzweifelhaftes, wenn auch abgeschwächtes Wachstum stattfand.

An allen Platten ohne Ausnahme ließ sich aber beobachten, daß eine anfängliche Vermehrung der im Nähragar verteilten Keime stattgefunden hatte. Die Wachstumshemmung ist also erst bei der Aufbewahrung der Platten aufgetreten und hat alsdann ein sichtbares Oberflächenwachstum verhindern können. Nun teilen zwar C. und K. einen Versuch mit, wobei es ihnen gelang, die Hemmungsstoffe im bakterienfreien Dialysat einer Coli-Bouillonkultur nachzuweisen; bei Wiederholung dieser Versuche habe ich solches aber nicht bestätigen können. Nach den Ergebnissen mit der zentrifugierten Bouillonkultur war es auch wohl nicht anders zu erwarten.

Es muß übrigens wundernehmen, daß C. und K. nicht versucht haben, die Wachstumshemmung direkt in der Bouillonkultur nachzuweisen, anstatt sich des Umweges mit der Agarplatte zu bedienen, der die Sache unnötig kompliziert und die Beurteilung schwierig macht. Hätten sie das getan, so würden sie alsbald gefunden haben, daß ihre Auffassung über die so schnell auftretende absolute Wachstumshemmung in der Bouillonkultur unrichtig sei. Diese Auffassung steht sogar mit bereits bekannten Tatsachen in Widerspruch. So wird von Hehewerth<sup>1)</sup> für *B. coli* bei 37° angegeben, daß, während die Agarkultur schon nach 18—24 Stunden zu wachsen aufhört, in einer Bouillonkultur sogar noch nach 11—14 Tagen Vermehrung stattfindet, ungeachtet daß schon nach kurzer Zeit ein massenhaftes Absterben zu konstatieren ist.

1) Arch. f. Hyg. Bd. XXXIX.

(Schluß folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Ueber aktive Immunität gegen Rhinosklerom- und Pneumobacillen.

[Aus dem hygienischen Institut der deutschen Universität in Prag. Vorstand: Prof. Hueppe.]

Von Privatdozent Dr. **Franz Erben**,  
Assistenten der Klinik v. Jaksch in Prag.

Die interessanten Resultate, welche die Aggressinlehre Bails zeitigt hat, erweckten in mir den Wunsch, dieselbe genauer kennen zu lernen. Der Autor selbst hatte die Liebenswürdigkeit, mich in seine Methodik einzuweihen, wofür ihm hier bester Dank gesagt sei. Die im folgenden mitgeteilten Untersuchungen beschäftigen sich mit dem Nachweise von Aggressin in sterilisierten Rhinosklerombacillen oder Pneumobacillen-Exsudaten und bringen Belege für eine gelungene aktive Immunisierung mit solchen.

Ich gehe gleich an die Beschreibung der Versuche, welche den Aggressinnachweis in Rhinoskleromexsudaten betreffen.

Durch intraperitoneale Injektion von Sklerombacillen, deren Virulenz durch Tierpassage so gesteigert wurde, daß  $\frac{3}{4}$  Oese ein Meerschweinchen von 250 g in 24–30 Stunden tötet, wird ein dickliches, fadenziehendes Exsudat gewonnen, das außerordentlich reich an Kapselbacillen ist, nur spärliche Leukocyten enthält, welche nur ausnahmsweise Phagocytose zeigen, und das nur schwer zu zentrifugieren ist. Durch Injektion von Exsudat kann die Infektion so gesteigert werden, daß der Tod in 12 Stunden eintritt, das Exsudat sehr reich an Bacillen, aber sehr arm an Leukocyten und viel dünner wird, so daß es nun erheblich leichter sich zentrifugieren läßt. Nach 2-tägigem Stehen des klaren Zentrifugates mit Toluol ist es steril.

Wird solches steriles Exsudat zusammen mit einer subletalen Dosis von Bacillen intraperitoneal injiziert, so stirbt das Tier, während das Kontrolltier zwar krank wird, aber am Leben bleibt, wie folgender Versuch beispielsweise zeigt.

### Versuch 1.

Meerschweinchen 72, 275 g schwer, erhält  $\frac{1}{4}$  Oese Rhinosklerombacillen und 5 ccm steriles Rhinoskleromexsudat intraperitoneal. Nach 9 Stunden ist das Tier sehr krank, die Kapillarentnahme aus der Bauchhöhle ergibt wenige Leukocyten, massenhafte Bacillen. Tod nach ca. 15 Stunden.

Sektion: Ziemlich viel eines dünnen, fadenziehenden Exsudates. Mikroskopischer Befund wie oben. Auf der Leberoberfläche nur spärliche Eiterflöckchen. Kultur aus einer Oese Herzblut: 12 Kolonien.

Kontrollversuch: Meerschweinchen 74, 245 g schwer, erhält  $\frac{1}{4}$  Oese Sklerombacillen intraperitoneal. Nach 9 Stunden ist das Tier zwar krank, die Kapillarentnahme ergibt aber viele Leukocyten, wenige Bacillen. Nach 20 Stunden sind die Bacillen verschwunden. Exsudat rein eiterig. Mäßig reichliche Körnchenphagocytose.

Bei letalen Dosen wird durch Zusatz von sterilem Exsudat die Infektion eine ungleich viel schwerere.

### Versuch 2.

Meerschweinchen 18, 245 g schwer, erhält  $\frac{1}{4}$  Oese Rhinosklerombacillen und 2,5 ccm sterilen Exsudates interperitoneal. Nach ca. 5 Stunden im Exsudat massenhaft Bacillen, fast keine Leukocyten. Nach 12 Stunden Tier sterbend, Bacillen noch vermehrt. Sektion ergibt reichliches, dünnes, bacillenreiches Exsudat fast ohne Leukocyten. Auf der Leber nur einzelne Eiterflöckchen. Aus einer Oese Herzblut zahlreiche Kolonien (Rasen).

**Kontrollversuch:** Meerschweinchen 19, 220 g, erhält  $\frac{1}{4}$  Oese Sklerombacillen intraperitoneal. Nach 5 Stunden ist das Tier noch nicht so schwer krank; im Exsudate wenige Bacillen, viel mehr Leukocyten. Nach 12 Stunden Tier krank. Befund der gleiche. Stirbt nach 21 Stunden. Sektion ergibt dickes, bacillenreiches Exsudat mit viel Leukocyten, auf der Leber Eiterauflagerung. Aus einer Oese Herzblut viele, aber noch distinkte Kolonien.

Aehnliche Differenzen in der Schwere der Infektion kommen zu stande, wenn man einerseits Exsudat, wie es aus dem Tiere kommt, und andererseits Aufschwemmung von Kulturbacillen injiziert.

#### Versuch 3.

Meerschweinchen 65 erhält Exsudat von Meerschweinchen 64, Meerschweinchen 67 hingegen die gleiche Menge Aufschwemmung von Kultur (2 Agarkulturen), die nach ihrer Trübung und dem mikroskopischen Bild ungefähr gleich bacillenreich (eher reicher) war als das Exsudat.

Das Resultat war folgendes:

Meerschweinchen 65 war nach höchstens 12 Stunden tot, sein Exsudat dünn, bacillenreich, fast frei von Leukocyten. Eine Oese Herzblut entwickelte einen Bacillensaum. — Meerschweinchen 67 starb nach 18 Stunden. Das Exsudat war zwar bacillenreich, aber dicklicher und enthielt viel mehr Eiterkörperchen. Aus dem Herzblute (dieselbe Oese) gingen nur wenige Kolonien auf.

In allen diesen Versuchen ist zu konstatieren, daß bei den Aggressintieren regelmäßig reichlichere Mengen Bacillen im Blute vorzufinden waren, als bei den Kontrolltieren, trotzdem letztere länger lebten.

Vielfache Versuche haben mich auch darauf aufmerksam gemacht, daß die Bacillen aus dem Exsudate (der beim Zentrifugieren gebildete Satz), wenn sie nur schnell genug zu gewinnen waren, erheblich virulenter schienen als Kulturbacillen. und seien sie selbst aus dem gleichen Exsudat in erster Generation auf künstlichem Nährboden gezüchtet.

In gleicher Weise konnte ich auch bei Friedländers Pneumobacillen die infektionsbefördernde Wirkung steriler Exsudate, die in gleicher Weise wie die erstgenannten behandelt waren, erhalten, wie folgende Versuche zeigen.

#### Versuch 4.

Meerschweinchen 70, 305 g schwer, erhält 5 ccm sterilen Pneumobacillenexsudates und  $\frac{1}{4}$  Oese Pneumobacillen. Nach 7 Stunden ist das Tier sehr krank. Im Exsudat finden sich reichlich Bacillen, fast keine Leukocyten. Tod nach 11 Stunden. Im Peritoneum reichliches, dünnes hämorrhagisches Exsudat mit viel Bacillen, fast fehlenden Leukocyten. Keine Phagocytose.

**Kontrollversuch:**

Meerschweinchen 71, 295 g schwer, erhält nur  $\frac{1}{4}$  Oese Pneumobacillen. Nach 7 Stunden ist das Tier fast munter. Im Exsudat keine Bacillen, viele Leukocyten.

#### Versuch 5.

Meerschweinchen 57, 300 g schwer, erhält 3 ccm steriles Pneumobacillenexsudat und 1 Oese Pneumobacillen. Am nächsten Tage früh tot. Im Exsudat massenhaft Bacillen, wenig Leukocyten. Eine Oese Herzblut gibt zahlreiche konfluierende Kolonien. Auf der Leber geringe Auflagerung.

**Kontrollversuch:**

Meerschweinchen 58, 270 g schwer, erhält nur 1 Oese Pneumobacillen. Am nächsten Tage früh tot (nach dem Befunde offenbar später gestorben als Meerschweinchen 57). Im Exsudat viel weniger Bacillen, mehr Leukocyten. Eine Oese Herzblut ergibt viel weniger Kolonien. Auf der Leber starke Auflagerung.

Also die gleichen Differenzen, wie wir sie bei Sklerombacillen konstatierten.

Von höchstem Interesse ist folgender Versuch, der zeigt, daß sich Pneumobacillen- und Sklerombacillen-Exsudate in Bezug auf ihre infektionsbefördernde Wirkung vertreten können.

#### Versuch 6.

Meerschweinchen 72, 275 g schwer, erhält 5 ccm sterilen Sklerombacillenexsudates und  $\frac{1}{4}$  Oese Sklerombacillen. Meerschweinchen 73, 310 g schwer, erhält 5 ccm sterilen Pneumobacillenexsudates und  $\frac{1}{4}$  Oese Sklerombacillen.

Beide Tiere sind nach 9 Stunden sehr krank, im Exsudate haben beide massenhaft Bacillen, wenige Leukocyten. 12 Uhr nachts beide tot.

Sektion ergibt bei beiden viel dünnes Exsudat mit vielen Bacillen, wenig Leukocyten, auf der Leber spärliche Eiterflöckchen. Aus 1 Oese Herzblut ca. 20 Kolonien.

#### Kontrollversuch:

Meerschweinchen 74, siehe Versuch 1.

Wir haben also mit diesen Versuchen festgestellt, daß die Exsudate infektionsbefördernde Wirkung haben, daß sie subletale Dosen letal machen und bei letalen Dosen besonders schwere Infektionen und beschleunigten Tod bewirken können.

Diese Exsudate verleihen aber auch den mit ihnen behandelten Tieren Schutz gegen Infektion, ohne selbst eine nennenswerte Giftwirkung zu äußern.

Es wurde eine größere Zahl von Meerschweinchen mit sterilen (natürlich auch zentrifugierten) Skleromexsudaten, einige auch mit Pneumobacillenexsudaten behandelt und mit diesen aggressivimmunen Tieren eine Reihe von Versuchen unternommen, die ihre Immunität gegen diese Bacillen beweisen.

#### Versuch 7.

Meerschweinchen 5, 270 g schwer, erhielt am 4. Dez. 1905 1 ccm steriles Sklerom-bacillenexsudat, ferner, nachdem es sich von der unerheblichen Gewichtsabnahme (25 g) erholt hatte, am 15. Dez. wieder 1 ccm und am 24. Dez. neuerlich 1 ccm Exsudat subkutan, im ganzen also 3 ccm. Am 6. Jan. 1906 (Körpergewicht 325 g) erhielt es  $\frac{3}{4}$  Oese Rhinosklerombacillen (doppelte letale Dosis) intraperitoneal. (Das Kontrolltier 14 von 310 g erhielt dieselbe Bacillenmenge.) Schon nach 10 Minuten waren im bacillenreichen Exsudat Leukocyten zu finden (beim Kontrolltier noch keine). Nach 1 Stunde war die Zahl der Bacillen ungefähr gleich, die Leukocyten vermehrt; geringe Phagocytose. (Im Kontrolltier waren die Bacillen vermehrt, die Leukocyten sehr spärlich, keine Phagocytose.)

Nach 2 Stunden waren die Bacillen wieder etwas vermehrt, die Leukocyten sehr viel mehr. (Im Kontrolltier die Bacillen stark vermehrt, die Leukocyten an Zahl beträchtlich geringer.)

Nach 3 Stunden Bacillen noch immer nicht vermindert, massenhaft Leukocyten. (Im Kontrolltier Bacillen stark vermehrt, keine Leukocyten.)

Nach 10 Stunden waren beide Tiere krank. Das Immuntier zeigte fast keine Bacillen mehr. 1 Oese Exsudat ergab kulturell 37 Kolonien, massenhaft Leukocyten. (Das Kontrolltier zeigt massenhaft Bacillen, 1 Oese Exsudat ergibt einen Bacillenrasen, sehr wenig Leukocyten.)

Nach 24 Stunden ist das Immuntier munter, das Exsudat ist fast steril, 1 Oese ergibt 2 Kolonien, rein eiterig. (Kontrolltier schwer krank, im Exsudat reichlich Bacillen, sehr wenig Leukocyten.)

Nach 36 Stunden Immuntier vollkommen wohl. Kontrolltier tot. Sektion ergibt wenig dickes Exsudat mit massenhaften Bacillen und wenig Leukocyten. Aus 1 Oese Herzblut gehen einige Kolonien auf.

#### Versuch 8.

Meerschweinchen 24 erhält einmal 0,5 ccm steriles Skleromexsudat.

Nach 17 Tagen wird es mit  $\frac{3}{4}$  Oese Sklerombacillen intraperitoneal infiziert, in gleicher Weise das gleich große Kontrolltier 56.

Nach 1 Stunde ergab die Kapillarentnahme bei beiden Tieren Bacillen vermehrt, keine Leukocyten.

Nach 5 Stunden zeigen beide Tiere im Exsudat viele Bacillen, das Kontrolltier außerordentlich wenig Leukocyten.

Nach 7 Stunden zeigte das Kontrolltier im Exsudat enorm viel Bacillen, wenig Eiterkörperchen, das Immuntier viele Bacillen, aber auch sehr viele Leukocyten.

Das Kontrolltier starb nach ca. 20 Stunden. Im Exsudat derselbe Befund wie bei der letzten Entnahme. Das Immuntier starb nach 30 Stunden. Das sehr dicke Exsudat enthielt einige Bacillen, enorm viele Eiterkörperchen.

#### Versuch 9.

Meerschweinchen 76, 205 g schwer, erhält 2 ccm steriles Rhinosklerombacillen-exsudat. 20 Tage später (bei einem Körpergewicht von 225 g) erhielt es 1 Oese Rhinosklerombacillen intraperitoneal, das Kontrolltier 98 von 220 g Gewicht desgleichen.

Nach  $\frac{1}{2}$  Stunde waren bei Gegenwart von viel Bacillen im Exsudat des Immuntieres schon Leukocyten erschienen. Nach 2 Stunden waren die Bacillen kaum vermindert, die Leukocyten aber vermehrt. Die Bacillen nehmen von da an Zahl ab, die Leukocyten zu, so daß nach 8 Stunden erstere im eiterigen Exsudat fast vollständig fehlen. Beim Kontrolltier nahm die Zahl der Bacillen ständig zu, die Leukocyten vermehrten sich nicht weiter. Tod trat nach 24 Stunden ein.

Diese Versuche ergeben, daß zur Erlangung einer aktiven Immunität gegen überletale Dosen von Rhinosklerombacillen eine einmalige Injektion von 0,5 ccm sterilen Exsudates nicht ausreicht (nach dem Resultate des entsprechenden Versuches mit Pneumobacillen auch nicht von 1 ccm), hingegen vollständig eine einmalige Injektion von 2 ccm Exsudat.

Gegen subletale Dosen reagieren Immuntiere viel schwächer als die Kontrolltiere, wie folgender Versuch zeigt.

#### Versuch 10.

Meerschweinchen 26, 205 g schwer, erhält am 20. Jan. 1906 1,5 ccm steriles Sklerombacillenexsudat, am 25. nach Wiedererlangung seines Körpergewichtes abermals 1,5 ccm, am 29. wieder 1,5 und endlich am 7. Febr. nochmals 1,5 ccm, im ganzen also 6 ccm. 30 Tage nach der letzten Injektion erhält es  $\frac{3}{4}$  Oese Sklerombacillen. Nach 9 Stunden sind die Bacillen aus dem Exsudat vollständig geschwunden, reichliche Leukocyten sind vorhanden. Keine Phagocytose.

Das Kontrolltier 74 hat nach 9 Stunden neben vielen Leukocyten noch Bacillen in ungefähr derselben Zahl wie zu Beginn des Versuches, erst am nächsten Tage (30 Stunden später) waren die Bacillen verschwunden und reiner Eiter vorhanden. Körnchenphagocytose.

Auffällig war auch, wie munter das Immuntier geblieben war, ganz im Gegensatz zu dem schwer kranken Kontrolltier.

So schön diese Versuche auch ausgefallen sind, so deutlich sich die Schutzwirkung selbst gegen mehrfach letale Dosen äußerte, so versagte dieselbe doch vollständig bei Versuchen mit Infektion durch Exsudat und Exsudatbacillen.

Den ersten diesbezüglichen Versuch, den ich nur mitteilen will, habe ich in der Weise angestellt, daß ich ein immunisiertes Tier mit einer relativ großen Menge frischen Exsudates infizierte. Dasselbe starb in genau der gleichen Zeit wie das Kontrolltier.

#### Versuch 11.

Meerschweinchen 25, 205 g schwer, erhält im Verlaufe eines Monates 4,5 ccm sterilen Rhinoskleromexsudates subkutan.

20 Tage nach der letzten Injektion wird es intraperitoneal mit 1 ccm frischen Skleromexsudates infiziert. In gleicher Weise das Kontrolltier 79.

Beide Tiere waren nach 7 Stunden sehr krank, das Kontrolltier hatte im Exsudat enorm viel Bacillen und fast keine Leukocyten, das Immuntier ebenfalls enorm viel Bacillen, aber viel mehr Leukocyten. Der Tod trat in fast derselben Zeit ein. Im Exsudat des Immuntieres war neben Unmassen von Bacillen viel Eiter, in dem des Kontrolltieres wenig. Die Kultur aus dem Herzblute ergab bei letzteren einige Kolonien, beim Immuntier Sterilität.

Wie schwer die Infektion durch Exsudat ist, beweist viel eklatanter ein Versuch, der mit Pneumobacillen angestellt wurde und weiter unten erwähnt wird, indem ein hochimmunes Tier durch Infektion mit 0,2 ccm Exsudat in genau derselben Zeit getötet wurde wie das Kontrolltier.

Fast ebenso schwer überstehen die aggressivimmunen Tiere Infektionen mit einigermaßen erheblichem Zusatz von Aggressin (i. e. sterile zentrifugierte Exsudatflüssigkeit). Folgender Versuch zeigt das sehr schön.

#### Versuch 12.

Meerschweinchen 6 wurden nach und nach 10 ccm steriles Rhinoskleromexsudat subkutan injiziert. 16 Tage nach der letzten Injektion erhielt es (bei einem Körpergewicht von 550 g) 2,5 ccm steriles Rhinosklerom mit 1 Oese Bacillen. Das Kontrolltier 97 desgleichen.

Beide Tiere starben 22 resp. 20 Stunden nach der Infektion.

Beim Immuntier trat die Vermehrung der Bacillen im Exsudat vielleicht etwas langsamer ein, sicher waren die Leukocyten viel reichlicher, wie sowohl durch Kapillarentnahme im Verlaufe des Prozesses, als auch bei der Sektion konstatiert wurde. Aber trotz dieses Unterschiedes erfolgte der Tod in derselben Zeit.

Nachdem wir so die Grenzen unserer aktiven Immunität festgestellt haben, erübrigt es uns nur noch, zu zeigen, daß die Immunität keine spezifische ist. Im folgenden Versuche haben wir ein sklerombacillenimmunes Tier mit Pneumobacillen infiziert. Die Infektion wurde gut überstanden.

#### Versuch 13.

Meerschweinchen 4, 230 g schwer, erhielt am 4. Dez. 0,5 ccm, am 15. Dez. 0,5 und am 24. Dez. abermals 0,5 ccm steriles Rhinosklerombacillenexsudat subkutan. Ein Monat nach der letzten Injektion wurden ihm  $\frac{1}{4}$  Oese Pneumobacillen intraperitoneal injiziert. Das Kontrolltier 36 von dem gleichen Gewichte von 500 g erhielt dieselbe Menge Bacillen.

$\frac{1}{4}$  Stunde nach der Injektion hatten beide Tiere gleichviel Bacillen im Exsudate.  $1\frac{1}{4}$  Stunde hernach war in beiden Tieren, jedoch stärker im Kontrolltier, Vermehrung eingetreten, bei beiden zeigten sich vereinzelte Leukocyten. 3 Stunden nach der Injektion hatten beim Immuntier die Bacillen an Zahl abgenommen, beim Kontrolltier war eine enorme Menge Bacillen im Exsudat. Das letztere hatte sehr spärliche Leukocyten, das erstere viele Leukocyten in Klumpen. Nach einer weiteren Stunde hatte sich diese Differenz noch beträchtlich vergrößert.

Nach 18 Stunden war das Kontrolltier tot, das Immuntier vollständig munter.

Mit sterilem Pneumobacillenexsudat immunisierten Tiere sind gegen Pneumobacillen in ihrer tödlichen Dosis immun, ebenso auch gegen Rhinosklerombacillen<sup>1)</sup>.

#### Versuch 14.

Meerschweinchen 102 hat subkutan 3 ccm steriles Pneumobacillenexsudat bekommen. 11 Tage nach der Injektion wird es mit 1 Oese Friedländer intraperitoneal infiziert. Das gleichgroße Kontrolltier 101, 325 g schwer, erhält dieselbe Infektion.

Unter Vermehrung der Bacillen und nur spärlicher Auswanderung von Leukocyten und geringer Phagocytose stirbt es innerhalb 20 Stunden.

Beim Immuntier verschwinden die Bacillen, nachdem sie sich etwas vermehrt hatten, innerhalb 6—8 Stunden unter starker Vermehrung der Leukocyten, so daß zuletzt das Exsudat eiterig wird.

#### Versuch 15.

Meerschweinchen 4, ca. 200 g schwer, erhält 4 ccm steriles Pneumobacillenexsudat subkutan. 14 Tage nach der Injektion wird es mit 1 Oese Rhinosklerombacillen infiziert, ebenso ein Kontrolltier von gleicher Größe.

Unter den nun schon oft geschilderten Erscheinungen verschwinden beim ersteren in einigen Stunden die Bacillen, das Exsudat wird rein eiterig, beim Kontrolltier vermehren sich die Bacillen zusehends. Es stirbt nach 24 Stunden.

Aber auch hier versagt der Schutz gegen Infektion auch nur kleiner Mengen frischen Exsudates. Im folgenden Versuch wurde einem hochimmunisierten größeren Tiere bloß 0,2 ccm frischen Exsudates intraperitoneal injiziert, worauf es trotz reichlicher Auswanderung von Leukocyten in derselben Zeit (22 Stunden) starb wie das Kontrolltier (20 Stunden). Es ist hierbei zu bemerken, daß die Menge Exsudat so gering ist, daß das in ihm enthaltene Aggressin zu einer merklichen Infektionsbeschleunigung nicht hinreicht, ebenso wie eine so geringe Menge Aggressin auch noch keinen sichtbaren Impfschutz verleiht. Wie aus obigen Versuchen hervorgeht, braucht es dazu in unserem Falle mit den uns zur Verfügung stehenden Exsudaten mindestens einer Menge von 1—2 ccm,

1) Anmerkung bei der Korrektur. Weitere Versuche haben gezeigt, daß durch Pneumobacillenaggressin Immunität nicht so sicher zu erzeugen ist, wie mit Sklerombacillenaggressin.

womit aber nicht gesagt sein soll, daß es nicht gelingen sollte, durch weitere Anpassung oder Andeutung der Versuchstiere noch wirksamere aggressinhaltige Exsudate zu erzielen. Es ist also im folgenden Versuche nicht so sehr die Menge des Aggressins, welche den Schutz illusorisch macht (wie oben im Versuche 12 bei hochimmunisierten Tieren), sondern es muß schon die eigentümliche Beschaffenheit der tierischen Bacillen, deren Menge zwar groß, aber doch nicht größer als an anderen Versuchen war, sein, gegen welche die Immunität nicht stand hält. Dabei ist nur das merkwürdig, daß zwar Leukocyten in großer Menge angelockt werden, ein Moment, das für gewöhnlich das Zeichen ist, daß die Infektion wenigstens eine mildere, der Tod hinausgeschoben wird, wenn schon nicht ihre Kraft gebrochen ist, in diesem Falle aber trotzdem in gleicher Zeit der Tod eintritt.

#### Versuch 16.

Meerschweinchen 76, 210 g schwer, erhält am 27. Jan. 1906 1 ccm, am 31. Jan. 2 ccm, am 6. Febr. 2 ccm, am 13. Febr. 2 ccm, am 27. Febr. 3 ccm, im ganzen also 10 ccm steriles Pneumobacillenexsudat. 17 Tage nach der letzten Injektion wird es mit 0,2 ccm frischen Pneumobacillenexsudates infiziert. Das gleichgroße Kontrolltier 95, 400 g schwer, desgleichen.

Das Kontrolltier zeigt  $\frac{1}{4}$  Stunde nach der Injektion neben vielen Bacillen, Leukocyten in Klumpen, nach 2 Stunden Bacillen vermehrt, Leukocyten fast verschwunden. Nach 16—18 Stunden tot. Im Exsudat massenhaft Bacillen, fast keine Leukocyten. Leber ohne Auflagerung. Kultur aus Herzblut reichlich.

Das Serumtier hat nach  $3\frac{1}{4}$  Stunden ebenfalls massenhaft Bacillen, daneben aber noch Leukocyten. Tod nach 18 Stunden mit massenhaften Bacillen, spärlichen Leukocyten im Exsudat, eiteriger Auflagerung auf der Leber. Aus dem Herzblut nicht weniger Kolonien als beim Kontrolltier.

Ich erwähne hier noch, daß das Immunserum keine Agglutination weder der Rhinosklerom- noch der Pneumobacillen hervorruft<sup>1)</sup>. Ebensovien zeigen die immunen Tiere, wie aus den Versuchsprotokollen hervorgeht, Bakteriolyse. Es tritt regelmäßig in den ersten Stunden eine Vermehrung der Bacillen im Exsudate ein, niemals zeigt sich eine Verminderung oder gar primär ein auffälliges Verschwinden, wie uns dieses Phänomen aus den Originalversuchen Pfeiffers bekannt ist.

Nun zum Schlusse übergehend, haben wir zu erwähnen, daß sowohl der verwendete Rhinosklerombacillen-, als auch der Pneumobacillensamm kulturell alle typischen Eigenschaften zeigte, wie sie z. B. Wilde für diese Typen des „*Bacillus mucosus capsulatus*“ fordert. Bemerkenswert erscheint es mir, daß meine beiden Stämme eine recht konstante morphologische Differenz aufwiesen, der Sklerombacillus war immer breiter und länger, der Friedländer schmaler und kürzer und dabei oval.

Es gelang uns, erstens in beiderlei Exsudaten infektionsbefördernde Wirkung ohne erhebliche Toxizität nachzuweisen und durch Injektion derselben eine nicht bakterizide Immunität zu erzeugen und damit also zwei Eigenschaften nachzuweisen, die Balle seinen Aggressinen vindiziert.

Es konnte von uns zweitens der Nachweis erbracht werden, daß die infektionsbefördernde Wirkung dieser Exsudate sich nicht nur auf den Erzeuger derselben beschränkt, sondern auch wechselseitig — also in Sklerombacillenexsudaten für Pneumobacillen, in Pneumobacillenexsudaten für Sklerombacillen — vorhanden ist, diese

1) Die Agglutination wurde mit frischen Bacillen, nicht nach der von Porges angegebenen Methode, geprüft.



beiden Bakterientypen also zueinander in demselben Verhältnisse stehen wie etwa Coli- und Typhusbacillen nach den Versuchen von Salus.

Endlich konnte drittens der Nachweis erbracht werden, daß sich in Tieren, die mit solchen Exsudaten behandelt wurden, Schutzstoffe bildeten, und zwar dadurch, daß solche Tiere selber immun waren (aktive Immunität), und diese Immunität sowohl für die einen als auch die anderen Bacillen eintrat, also eine wechselseitige war.

Bisher konnte mit Kapselbacillen nur außerordentlich schwierig Immunität erzeugt werden. Durch Behandlung mit abgetöteten oder lebenden Bacillen in steigender Menge gingen die Tiere gewöhnlich marastisch ein. Wilde konnte von 20 so behandelten Tieren nur eines am Leben erhalten, dessen Serum sowohl gegen Sklerom- als auch Pneumobacillen schützte. Vogelius hingegen erzielte weder bei Meer-schweinchen noch bei Kaninchen oder Mäusen durch Behandlung mit virulenter oder auch durch Wärme oder Toluol sterilisierter Kulturen Immunität. Klemperer und Scheier konnten jedoch unter großen Tierverlusten ein Serum gewinnen, das gegen die zur Behandlung verwendeten, aber auch gegen andere Kapselbacillen schützte. Nachdem nun Clairmont in ausgedehnten Versuchen bei Behandlung von Kaninchen mit allmählich steigenden Dosen von Kapselbacillen keine Schutzkörper im Serum auffand, ebensowenig wie Agglutination (beides gelang nur bei Verwendung des Aërogenes), so kommt Abel zu dem Schlusse, daß es noch keineswegs über alle Zweifel erwiesen sei, ob überhaupt je durch Injektion steigender Dosen von lebender oder toter Kultur Immunisierung auch nur gegen den zur Immunisierung dienenden Stamm erzielt worden sei. Unsere Versuche haben ergeben, daß ohne jeden Tierverlust, da die Exsudate in anwendbarer Menge überhaupt nicht toxisch wirken, durch Injektion verhältnismäßig geringer Mengen von Aggressin schon aktive Immunität gegen letale resp. doppelte letale, nicht so sicher gegen mehrfach letale Dosis und nicht nur gegen denselben Bacillenstamm, sondern auch gegen einen verwandten zu erzielen ist, allerdings mit der Einschränkung, daß sie erheblich und sicher nur bei Kulturbacillen wirkt. Aber trotzdem ist der Unterschied gegenüber den Resultaten früherer Forscher insbesondere bei Rhinosklerom-bacillen ein so eklatanter, daß die Mitteilung dieser Versuchsergebnisse mir vollständig gerechtfertigt erscheint.

Die Versuche über passive Immunität sind im Gange und wird über dieselben demnächst berichtet werden.

Herrn Professor Hueppe sage ich für die Erlaubnis, die Mittel seines Institutes benutzen zu dürfen, besten Dank.

#### Zitierte Literatur.

- Abel in Kolle und Wassermann, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen, Bd. III. 1903. p. 880.  
 Bail, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh., Bd. LII. 1905. p. 272.  
 Clairmont, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXIX. 1900. p. 1.  
 Klemperer u. Scheier, Zeitschr. f. klin. Med. Bd. XLV. 1902. p. 133.  
 Porges, Wien. klin. Wochenschr. 1905. No. 26.  
 Salus, Wien. klin. Wochenschr. 1905. No. 25.  
 Vogelius, Baumgartens Jahresbericht, Bd. XVI. 1900. p. 55.  
 Wilde, Dissert. Bonn, 1896; Referat in Centralbl. f. Bakt. Bd. XX. 1896. p. 681.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber Cholera-vibrionen und andere Vibrionen.

### III. Ueber Identität der Hämotoxine und der Toxine, der Vibrionen sowie deren Antitoxine.

[Aus dem staatl. serotherapeutischen Institute in Wien.  
Vorstand: Prof. R. Paltauf.]

Von Privatdozent Dr. **R. Kraus** und Dr. **A. Prantschhoff**.

In einer früheren Mitteilung<sup>1)</sup> haben wir uns mit der Charakterisierung der von F. Gottschlich in El Tor gezüchteten 6 Vibrionen gegenüber echten Cholera-vibrionen beschäftigt.

Wir konnten das von F. Gottschlich, Kolle und Meinicke festgestellte Verhalten, nämlich die Uebereinstimmung der morphologischen, kulturellen und biologischen Eigenschaften bestätigen, haben aber außerdem noch nachgewiesen, daß diese 6 Stämme zum Unterschied von allen bisher untersuchten Cholera-stämmen in Bouillon Hämotoxine und akut wirkende Toxine produzieren. Trotzdem also diese Stämme morphologisch, kulturell und biologisch sich vom typischen Cholera-vibrio nicht unterscheiden lassen, sind sie doch vermöge der Hämotoxin und Toxin bildenden Eigenschaft vom Cholera-vibrio Koch verschieden. Es wurde weiter nachgewiesen, daß die Toxine dieser El Tor-vibrionen identisch seien mit dem bereits bekannten akut wirkenden Toxin des Vibrio Nasik. Das mit dem Toxin des Vibrio Nasik erzeugte Antitoxin vermag ja die Toxine der El Tor-stämme ebenso zu neutralisieren wie das zugehörige Toxin und umgekehrt. Ebenso lassen sich die Hämotoxine und Toxine der El Tor-stämme und des Vibrio Nasik durch Antitoxine, welche mit den Hämotoxinen und Toxinen dieser Stämme gewonnen sind, gegenseitig neutralisieren. Damit waren neue Tatsachen gewonnen.

Nach alledem war es wahrscheinlich, daß die Toxinbildung nicht bloß den 6 El Tor-stämmen und dem Vibrio Nasik zukommen dürfte, sondern daß auch andere Vibrionen solche Eigenschaften aufweisen könnten.

Es war daher wichtig, auch die 32 anderen aus El Tor stammenden Vibrionen daraufhin zu untersuchen. F. Gottschlich hat ja bekanntlich neben den 6 El Tor-vibrionen, welche er als Cholera-vibrionen angesehen hatte, aus Leichen der an Colitis und Dysenterie gestorbenen Mekkapilger in El Tor noch 32 Vibrionen gezüchtet, welche er auf Grund des negativen Ausfalles der Agglutination als vom Cholera-vibrio differente Vibrionen bestimmt hatte.

Daß wir diese Untersuchungen durchführen konnten, verdanken wir Herrn Dr. Ruffer, Präsidenten des internat. Sanitätsrates in Alexandrien, welcher es gestattete, daß uns diese Vibrionen durch die Freundlichkeit des Herrn Dr. F. Gottschlich übermittelt wurden.

Es wurden zunächst alle 32 Vibrionen morphologisch kulturell untersucht und mittels eines agglutinierenden Cholera-serums, welches mit einem Cholera-vibrio gewonnen war, biologisch studiert.

Auf die kulturellen Eigenschaften näher einzugehen wäre überflüssig,

1) Kraus und Pfißram, Centralbl. f. Bakt. 1906.

da Herr Dr. F. Gottschlich diese Vibrionen daraufhin untersucht hat und seine Resultate, wie er uns mitteilt, veröffentlichen wird. Soviel können wir aus unseren Untersuchungen sagen, daß alle Stämme zunächst typische Vibrionenform aufweisen, beweglich sind, gramnegativ sind und kulturelle Eigenschaften<sup>1)</sup> besitzen, die sie vom Cholera-vibrio schwer unterscheiden lassen.

Die Agglutination mittels agglutinierender Cholerasera („Edith, Diana“), welche den Cholera-vibrio Koch noch in Verdünnungen 1:8000 und 1:4000 agglutinieren, ergab, daß mit Ausnahme des Stammes 5 alle anderen Stämme nicht einmal in Verdünnungen 1:200 agglutiniert wurden. Der Stamm 5 wurde zwar in 200-facher Verdünnung agglutiniert, bei 1000-facher und 2000-facher Verdünnung zeigte sich eine Andeutung von Agglutination. Mithin können wir diese Vibrionen sowie auch Gottschlich es tut als verschieden vom Cholera-vibrio ansehen. Ganz gleichlautende Resultate haben wir mit den agglutinierenden Seren gewonnen, welche mit den 6 El Torstämmen erzeugt sind<sup>2)</sup> und welche ebenso wie das Choleraserum nicht im stande sind, die 32 Vibrionen zu agglutinieren. Auch hier macht der Vibrio 5 eine Ausnahme, indem er mit einzelnen Seren in 40-facher Verdünnung noch agglutiniert im Gegensatz zu allen anderen Stämmen, die nicht einmal in 40-facher Verdünnung zu agglutinieren vermögen. Auf Grund dieses agglutinatorischen Verhaltens kann man wohl mit Sicherheit behaupten, daß diese 32 Vibrionen weder mit dem Cholera-vibrio identisch sind, noch mit den 6 El Torstämmen, die ja gleiche Reaktionen wie der Cholera-vibrio ergaben. Daß diese Vibrionen auch mit dem Vibrio Nasik nicht identisch sein können, geht aus Versuchen hervor, die, mit einem agglutinierenden Serum gewonnen, mit Vibrio Nasik angestellt wurden. Das Serum agglutiniert zwar den Vibrio Nasik noch in 5000-facher Verdünnung, vermag aber keinen einzigen dieser Vibrionen in 40-facher Verdünnung zu agglutinieren. Es können demnach diese Vibrionen weder mit dem Cholera-vibrio, noch mit den 6 El Torvibrionen, noch mit dem Vibrio Nasik identifiziert werden.

Der Vollständigkeit halber war noch zu untersuchen wie sich die 32 El Torvibrionen biologisch zueinander und zu den anderen Vibrionen verhalten würden. Es wurden agglutinierende Sera gewonnen mit einzelnen Stämmen dieser Vibrionen und mit verschiedenen anderen Vibrionen, die auf die 32 El Torvibrionen und auch auf andere Vibrionen geprüft wurden. Hierbei hat sich, wie aus Tabelle IV ersichtlich ist, ergeben, daß ein Serum, gewonnen mit einem Stamm dieser 32 El Torvibrionen, bloß den zugehörigen Vibrio zu agglutinieren vermag, alle anderen El Torvibrionen entweder gar nicht oder nur in sehr niedrigen Werten. Auch die 6 El Torvibrionen, Cholera-vibrionen und die verschiedenen anderen Vibrionen verhalten sich diesem Serum gegenüber refraktär. Ganz gleiche Resultate konnte man mit Seren gewinnen die mit den verschiedenen anderen Vibrionen erzeugt wurden, was ja vorausgesetzt werden konnte. So agglutiniert beispielsweise das Serum, gewonnen mit V. Elvers, Deneke, bloß den Vibrio Elvers, Deneke und läßt alle anderen Vibrionen (6 El Torstämme, 32 El Torvibrionen und verschiedene andere Vibrionen) unbeeinflußt.

1) Manche Stämme verflüssigen Gelatine langsam und nicht in typischer Weise.

2) Die Sera, gewonnen mit Stamm 1, 3, 4, 5, 6, agglutinieren noch in 1000-facher Verdünnung, das Serum, gewonnen mit Stamm 2, noch in 10 000-facher Verdünnung.

Es hat C. Prausnitz versucht, mittels Agglutination die im Elbwasser gefundenen Vibrionen in ein System zu bringen. Daß auf diesem Wege eine Systemisierung der Vibrionen unmöglich ist, geht zur Genüge aus den hier angestellten Versuchen hervor. Es scheint, als ob hier ganz ähnliche Verhältnisse vorliegen würden, wie wir sie schon beim *B. coli* kennen gelernt haben.

Interessant war jetzt, zu erfahren, wie sich diese Vibrionen in Bezug auf Hämotoxinproduktion und Toxinproduktion verhalten würden.

Die Hämotoxinproduktion wurde in der bekannten Weise studiert, indem verschiedenaltige Bouillonkulturen in verschiedenen Mengen auf Kaninchenblutkörperchen in 5-proz. Kochsalzlösungen geprüft wurden. Es hat sich ergeben, daß Hämotoxin von der Mehrzahl der Vibrionen produziert werden, allerdings nicht gleichzeitig und quantitativ gleichwertig.

Nachgewiesen werden Hämotoxine in 48-stündigen Bouillonkulturen bei folgenden Vibrionen: 1—3—4—5—6—8—9—10—13—16—17—19—20—21—22—23—25—26—27—28, bei anderen Vibrionen 2—7—11—12—15—18—24—29—30 hatte 0,5 der Bouillonkultur entweder nur spurenweise oder gar keine Lösung nach 20 Stunden ergeben. Dagegen ließen sich in 5-tägigen Bouillonkulturen der Stämme 2—4—12—15 Hämotoxine nachweisen, die sowie die 2-tägigen Bouillonkulturen der anderen Stämme bereits in 2 Stunden hämolytisch gewirkt haben. Die Stämme 7—11—18 haben erst nach 20 Stunden partiell gelöst. In 7-tägigen Bouillonkulturen haben auch die Stämme 7—11—18—29 typische Hämotoxine produziert. Demnach haben in verschiedenaltigen Bouillonkulturen alle Vibrionen aus El Tor Hämotoxin gebildet. Die Hämotoxine lassen sich durch Reichel-Filter bakterienfrei gewinnen, wobei sie allerdings sowie das akute Toxin abgeschwächt werden.

(Schluß folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Die Wirksamkeit des Formalins und des Wasserstoffsuperoxyds in der Milch.

[Aus dem Hygienischen Institut der kgl. Universität Turin.  
Direktor: Prof. Dr. L. Pagliani.]

Von Dr. P. Bandini.

(Fortsetzung.)

### Lipolytisches Ferment.

Das fettsplattende Ferment wurde zuerst von Marfan und Gillet wahrgenommen, die es sehr energisch in der Frauenmilch vorfanden. Nach den Erfahrungen Spolverinis ist es weniger wirksam in der Kuhmilch und noch viel weniger in der Ziegen- und Eselsmilch.

Die Lipase ist, wie heute allgemein bekannt, ziemlich verbreitet sowohl im Tier- als im Pflanzenreich. Ihre Tätigkeit besteht in einer wahren Verseifung, wodurch die neutralen Fette sich in Fettsäure und Glycerin spalten.

Nach Gillet (23) verliert das fettsplattende Ferment der Milch seine Kraft, wenn die Milch einer Temperatur von 60—65° ausgesetzt wird, kann aber durch Gefrieren nicht zerstört werden, ist mit Alkohol fällbar, spaltet sich beim Durchgang durch Kerzen nicht und bleibt bei Abwesenheit von Sauerstoff sehr tatkräftig. Gillet will dieses Ferment nicht für eine wahre Lipase halten, sondern für eine Monobutyrynase, aus dem Grunde, weil es nicht auf andere Glyzeriden und besonders nicht auf die natürlichen Fette einwirkt.

Zur Erforschung der Wirkungsart dieses Fermentes in der mit Desinfektionslösungen vermengten Milch habe ich mich, dem Verfahren Spolverinis folgend, des neutralen Butterfettes (Merck) bedient, das also von dem fettsplattenden Ferment verdaut werden sollte, welches letzteres somit im Stande ist, das Monobutyryl in Glycerin und Monobuttersäure zu spalten.

Unter Wahrung aller aseptischen Vorsichtsmaßregeln habe ich auch bei diesem Versuche in sterilisierte Röhrchen 10 ccm Milch eingegossen, denen ich dann die Desinfektionslösung in der erforderlichen Stärke beimengte.

Nach Verlauf der bestimmten Zeit setzte ich jeder Milchprobe  $\frac{1}{2}$  ccm neutrales Monobutyryl zu, schüttelte das Ganze gründlich und brachte es dann in den Brutschrank. Nach 24—36-stündigem Aufenthalt in demselben prüfte ich, ob die Spaltung des Monobutyryls durch das Ferment bewirkt worden war.

In dieser Absicht goß ich die Milch mit dem Waschwasser des Röhrchens in einen starken Kolben mit langem, eng zulaufendem Hals. Mit Hilfe eines in die Flüssigkeit eintretenden Glasröhrchens ließ ich sodann Dämpfe kochenden Wassers in die Milch eintreten, welche die Eigenschaft besitzen, die Monobutyrylsäure, die flüchtig und in Wasser löslich ist, wegzuführen.

Waren dann die Wasserdämpfe in die Milch eingetreten, so fing ich das Destillationsprodukt mittels eines mit einem Gefrierapparat verbundenen Ablaufröhrchens in einem Kolben auf.

Tabelle VIII. Kuhmilch.

	Stunden des Verweilens des Desinfektionsmittels in der Milch	Stunden des Verweilens im Brutofen auf 37°	Quantität KOH $\frac{10}{N}$ erforderlich zur Neutralisation der entstandenen Säure
10 ccm Milch + Formalin			
1—5000	24	12	1,75
1—5000	36	36	1,90
1—500	24	24	1,76
1—500	36	36	1,80
10 ccm Milch + Wasserstoffsuperoxyd			
1—250	24	14	2,04
1—250	36	36	1,86
1—50	24	24	1,92
1—50	36	36	1,74
Nachprüfung		24	1,80
„		24	2,03

Um dann auch die Gewißheit zu erlangen, daß alle Monobutyrynsäure weggetragen worden war, erprobte ich die Reaktion des Destillats und setzte die Destillation so lange fort, bis das Destillat nicht mehr sauer reagierte.

Daraufhin bestimmte ich den Säuregehalt des Destillats mit einer  $\frac{N}{10}$ -Kaliumlösung, was mir dann gleichzeitig auch gestattete, die Energie des Fermentes zu berechnen (s. Tab. VIII).

Der größeren Bequemlichkeit halber habe ich mich nur der Kuhmilch bedient. Wie dann aus der vorstehenden Tabelle ersichtlich ist, die die Daten einiger meiner Versuche zusammenfaßt, wird auch das fettspaltende Ferment durch den Zusatz des Formalins und das Wasserstoffsuperoxyd zur Milch in dem gegebenen Verhältnis in keinerlei wahrnehmbarer Weise beeinflusst.

### Hydratierendes Ferment.

Dieses in Frauenmilch und Hundemilch stark wirksame Ferment wird in der Eselsmilch häufig angetroffen, niemals aber, wie dies Nobécourt, Merklen und Spolverini nachgewiesen haben, in der Kuh- und Ziegenmilch. Genannte Autoren haben ferner dargetan, daß das Funktionsvermögen dieses Fermentes bei Zimmertemperatur (20°) ziemlich gut ist, sein Optimum aber zwischen 37—39° erreicht und zwar für einen zwischen dem Minimum von wenigen Stunden (3—4) und einem nicht bestimmbaren Maximum gelegenen Zeitraum.

Es mag dann hier daran erinnert werden, daß die Spaltung des Salols durch dieses Enzym in direkter Beziehung zu stehen scheint mit der alkalischen Reaktion der Milch. Dejmoulier (24) will wirklich beobachtet haben, daß der Zusatz eines Tropfens Essigsäure zu 5 ccm Frauen- oder Eselsmilch hinreicht, das Erscheinen der Salicylsäure zu verhindern, während dagegen der Zusatz von  $\text{NH}_3$  die Spaltung des Salols auch in der Kuhmilch rasch zu stande bringen kann.

Ich verfuhr bei meinen Versuchen genau wie die mir vorhergegangenen Forscher, indem ich der Milch eine bestimmte Menge Salol beisetzte, das sich dann durch Einwirkung des Fermentes in seine Bestandteile spaltete, wonach ich nach Salicylsäure suchte, die der Indikator der vorgegangenen Zersetzung ist.

Mir diente ausschließlich Frauenmilch. Das beobachtete Verfahren war ganz genau dasselbe, wie das bei den anderen Versuchen beobachtete.

Zur Auffindung der Salicylsäure in der Milch stürzte ich die proteischen Stoffe mit einigen Tropfen Schwefelsäure, worauf ich filtrierte, dem Filtrat ein gleiches Volumen Aether zusetzte, die Mischung durchschüttelte und schließlich den Aether mit einem Abklärungsapparat los trennte und ihn langsam im Wasserbad in einer Porzellankapsel ausdünsten ließ. Auf den Rückstand goß ich nach Zusatz einer kleinen Menge Wasser einen Tropfen eines stark verdünnten Eisenhyperchlorür, wonach mir die positive oder negative Färbung der Flüssigkeit anzeigte, ob die Spaltung des Salols vor sich gegangen war oder nicht.

In allen von mir beobachteten Fällen ergab sich mir stets positive Reaktion, und so habe ich sowohl für dieses Ferment wie auch für die anderen feststellen können, daß auch ein Formalinzusatz von 1:500 und von Wasserstoffsuperoxyd von 2 Proz. auch dann nicht den geringsten Einfluß auf das hydratierende Ferment der Milch ausübt, wenn das

Salol der Milchprobe 48 Stunden nach Beigabe der Desinfektionslösung zugesetzt wird.

Ich beschränkte mich auf die quantitative Analyse dieses Ferments, da mir schon diese zweifelsohne abzuleiten gestattete, daß nicht nur die von mir hinzugefügten die Wirksamkeit des Fermentes nicht hemmten, sondern selbst nicht einmal im stande waren, deren Wirkung auch nur im geringsten zu beeinträchtigen.

### Trypsin- und Pepsinferment.

Diese in den verschiedenen Milcharten vorkommenden Fermente aufgefunden zu haben, ist ein Verdienst Spolverinis, der sie als erster in der Milch aller Tiere stets wirksam vorfand. Eine neuere Arbeit Moros bestätigt dann die Resultate Spolverinis.

Diese Fermente sind in der Kuhmilch am wirksamsten, hierauf folgen der Wirksamkeit nach in absteigender Linie die Hunde-, Ziegen-, Frauen- und endlich die Eselsmilch. Bei allen verschiedenen Milcharten bringt jedoch das Tripsinferment im Vergleich zu dem Pepsinferment seine Wirksamkeit energischer zum Ausdruck. Die Lebensfähigkeit dieser Fermente wird auch durch niedere Temperaturen und vielstündige Aussetzung darin in keiner Weise beeinträchtigt; ihr Funktionsvermögen erhält sich bei 38–40° 18–20 Stunden lang und mehr.

Zum Studium der Wirksamkeit dieser Fermente habe ich mich des von Spolverini selbst angewandten Verfahrens bedient, das darin besteht, daß nach der nachstehend beschriebenen Behandlung die Gegenwart des löslichen in der Milch bestimmt wird. Denn es ist, so sagt Spolverini, doch natürlich daran zu denken, daß, da in der Milch bedeutende Quantitäten albuminoider Substanzen vorhanden sind, das Trypsin- und Pepsinferment, wenn es in der Milch enthalten ist, diese proteischen Substanzen verdauen, flüssig machen und sie in Albumosen, Propeptone oder geradezu in Peptone verwandelt, sobald es in einem geeigneten Raume auf +39° gebracht wird.

Zum Aufsuchen des löslichen Albumins schien es auch mir zweckmäßiger zu sein, die proteischen Substanzen der Milch mit Ammoniumsulfat zu stürzen, das, wie aus den neuesten Untersuchungen hervorgeht, im stande ist, alle proteischen Substanzen, mit Ausnahme des Propeptons und Peptons, zu stürzen, wenn es bei einer gewissen Sättigung beigelegt wird, sowie auch das Propepton, wenn es nach vollständiger Sättigung beigelegt wird. Man hat sich nun in der Tat dahin verständigt, den Namen wahres Pepton nur der Substanz beizulegen, die nach Sättigung mit Ammoniumsulfat in der Lösung bleibt. Auf diese Weise vorgehend, blieb mir also nur übrig, die Gegenwart des löslichen Albumins in dem Filtrat darzutun, nach dem ich mit der bekannten Biuretreaktion fahndete.

Ich setzte also in sterilisierte Reagenzgläser 5 ccm der mit der größten Vorsicht angesammelten und zu untersuchenden Milch. Handelte es sich dann darum, das Trypsinferment vorzufinden, so fügte ich zur Alkalinisierung des Mittels 2–3 ccm einer sterilen 2½‰ Lösung von KOH mit 1‰ Kaffein hinzu, wollte ich dagegen das Pepsin vorfinden, so setzte ich ½–1 ccm einer sterilen 2‰ HCl-Lösung bei. Schließlich vermengte ich die verschiedenen Milchproben mit den gewohnten und entsprechend verschieden titrierten Desinfektionsmitteln, während ich in die der Nachprüfung dienenden Röhrchen mit natürlicher Milch einige Tropfen einer alkoholischen Thymollösung eingoß. Nach Einführung der

Röhrchen in den Brutofen und Verweilen derselben während einer bestimmten Zeit auf 37–38° bestimmte ich dann mit der vorbeschriebenen Methode die durch Einwirkung der in Rede stehenden Fermente eingetretene oder nicht eingetretene Proteolyse.

Ich will hier gleich bemerken, daß, solange ich die proteischen Substanzen dadurch zum Niederschlag brachte, daß ich Ammoniumsulfat bis zu völliger Sättigung beifügte, es mir trotz zahlreicher Kontrollversuche, die alle den Zweck hatten, die Gegenwart dieser Fermente in der Milch festzustellen, doch nur mit Mühe gelang, das Vorhandensein löslichen Albumins wahrzunehmen. Dieser Umstand überzeugte mich davon, daß die Wirksamkeit dieser Fermente nicht immer derart ist, daß durch sie die proteischen Substanzen vollständig in wahre Peptone umgewandelt werden. Es kam mir da der Gedanke, das Ammoniumsulfat der Milch bis zu einer gewissen Konzentration beizufügen, das dann zwar alle Proteine der Milch niederschlug, mir aber doch das Niederfallen der eventuell gebildeten Propeptone ersparte. Mit Hilfe dieses Verfahrens gelang es mir stets, die proteolytische Wirkung der in Rede stehenden Fermente deutlich darzutun, und dies nicht nur für die natürliche Milch, sondern auch für die Milch, die laut Tabelle IX mit Formalin und Wasserstoffsuperoxyd vermengt worden war.

Tabelle IX. Kuhmilch.

	Stunden des Verweilens im Brutofen bei 38°	Reaktion des löslichen Albumins	
		Pepsinferment	Trypsinferment
5 ccm Milch + Formalin			
1—5000	24	+++	++
1—5000	36	+++	++
1—500	26	++	++
1—500	36	+	+
5 ccm Milch + Wasserstoffsuperoxyd:			
1—250	24	+++	++
1—250	40	+++	++
1—50	24	+++	++
1—50	38	+++	++
Kontrolle	24	+++	++
Kontrolle	24	+++	++

NB. Mit dem Zeichen + will ich eine leichte positive Reaktion des löslichen Albumins ausdrücken, mit dem Zeichen ++ eine stärkere Reaktion, und mit dem Zeichen +++ eine sehr stark hervortretende positive Reaktion.

Ich verwandte dann alle Sorge darauf, die Gegenwart des zur Bildung gekommenen Propeptons und Peptons in den Milchproben festzustellen und verfuhr zu diesem Zwecke in folgender Weise.

Ich stürzte die zu jeder einzelnen Untersuchung verwandten 5 ccm Milch warm mit einem Zusatz von 10 ccm einer gesättigten Lösung von  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , denn wiederholte präliminäre Proben hatten mir bewiesen, daß eine solche Quantität Ammoniumsulfat stets zum Sturze aller in 5 ccm Milch enthaltenen proteischen Substanzen hinreichte. Im übrigen führte ich für jede Versuchsreihe vor Uebergang zu weiteren Untersuchungen eine präliminäre Untersuchung der Milch-



probe aus, um mich zu versichern, ob dieselbe nach der vorbeschriebenen Behandlung etwa noch nicht vollständig gestürzte Proteinspuren aufwies. War dann die Milch so der proteischen Substanzen beraubt, so filtrierte ich die Flüssigkeit und schritt dann mit dem äußerst klaren Filtrat zur Biuretreaktion. Aus der Farbe, die die Flüssigkeit annahm, und aus der Stärke der Farbe leitete ich dann nicht nur die durch die Fermente herbeigeführte Proteolyse ab, sondern auch, und dies mit einer stark an Wirkliche grenzenden Genauigkeit, das Funktionsvermögen eben dieser.

Wie aus der vorstehenden Tabelle ersichtlich, ist die proteolytische Wirkung der in der Kuhmilch enthaltenen Fermente auch bei Zusatz relativ stark titrierter desinfizierender Lösungen zur Milch nicht ausgeschoben werden; höchstens schien das der Milch in der relativ starken Dosis von 1:500 beigefügte Formalin, wie dies aus der Gesamtsumme meiner Beobachtungen hervorgeht, leicht hemmend auf das Trypsin- und Pepsinferment eingewirkt zu haben.

### Glukolytisches Ferment.

Auch dieses Ferment hat als erster Spolverini nachgewiesen, und zwar in allen von ihm untersuchten Milcharten.

In Bezug auf seine Energie hat Spolverini wahrgenommen, daß sie in der Kuh- und Ziegenmilch sehr stark entwickelt ist, weniger schon in der Frauen- und Hundemilch, nur sehr wenig in der Eselsmilch, daß dann die Lebensfähigkeit dieser Diastase von den niederen Temperaturen in keiner Weise beeinträchtigt wird (Eis), sowie daß sein Funktionsvermögen am besten bei einer zwischen 38° und 41° C liegenden Temperatur nach 18 Stunden und mehr zu Tage tritt.

Um nun die Gegenwart dieses Fermentes in der Milch nachzuweisen, verfuhr ich in derselben Weise wie Spolverini, mit dem Unterschiede jedoch, daß dieser Autor sich zur Dosierung des Zuckers stets der polarimetrischen Prüfung bediente, während ich, da mir dieser Apparat fehlte, zur Fehling'schen Reaktion griff, die allerdings weniger rasch sich ausführen läßt, dafür aber sehr genaue und sichere Resultate liefert.

War dann die Milch unter möglichst großen aseptischen Vorsichtsmaßregeln aufgenommen, so dosierte ich sofort ihren Laktosegehalt, worauf ich in sterilisierte Röhrchen genau 10 ccm Milch eingoß. Dem wurden sodann 2 ccm einer sterilen  $2\frac{1}{2}\text{‰}$  Kaliumlösung beigefügt (da nach Spolverini die glukolytische Diastase im alkalischen Mittel rascher eintritt). Schließlich kam die bekannte Quantität der verschieden titrierten Desinfektionslösungen hinzu. Den Milchproben jedoch, die mir zur Kontrolle dienen sollten, setzte ich 1 oder 2 Tropfen einer alkoholischen Thymollösung bei.

Waren dann alle Röhrchen im Brutofen auf 37–38° eine bestimmte Zeit lang verblieben, so schritt ich sofort zur Bemessung des Zuckers. Die quantitative Differenz zwischen Zuckergehalt der kaum gemolkenen und der nach dem Versuch bestehenden Milch sollte mir, wie leicht zu verstehen ist, dartun, ob Fermente vorhanden sind und von welcher Intensität ihre Wirksamkeit ist.

Zur Bemessung des Zuckers nach Fehling stürzte ich die in den 10 ccm Milch enthaltenen proteischen Substanzen durch Zusatz von Quecksilbernitrat, filtrierte die Flüssigkeit vorsichtig zusammen mit dem Waschwasser der Röhrchen und goß dann auf das äußerst klare, von

jeder Albumin- und Fettspur befreite Filtrat tropfenweise eine verdünnte Lösung von NaOH bis zu vollständig neutraler Reaktion, womit ich das in der Flüssigkeit im Ueberschuß sich vorfindende Nitrat unter Form von Quecksilberoxyd niederschlug. Daraufhin filtrierte ich von neuem, brachte das Filtrat in einen auf 100 ccm geeichten Kolben und zwar durch Zugabe destillierten Wassers genau auf das Messungszeichen und trug natürlich bei der Schlußberechnung auch dieser notwendigen Verdünnung der Milch Rechnung. Endlich führte ich dann in der so behandelten Flüssigkeit die Fehlingsche Reaktion aus.

Was nun die mit Formalin und Wasserstoffsuperoxyd vermengte Milch anbelangt, so fand ich in der kaum gemolkenen Milch und in der Milch, wie sie nach dem Versuche war, stets dasselbe Zuckerquantum vor. Dies gäbe uns also Anlaß, anzunehmen, daß das glukolytische Vermögen des Fermentes durch die zur Untersuchung herangezogenen Desinfektionslösungen zerstört wird. Ich mache hier jedoch darauf aufmerksam, daß es mir auf Grund zahlreicher sorgfältigst und genauest ausgeführter Versuche stark zweifelhaft vorkommen will, ob dieses Ferment, wenigstens in der Kuhmilch, denn andere Milcharten wurden von mir in dieser Richtung nicht untersucht, als vorhanden angenommen werden kann, da es mir niemals gelungen ist, auch bei den natürlichen Milchproben diese Diastase mit einer Wirksamkeit ausgestattet vorzufinden, die Spolverini ihr zuspricht, und da, auch wo ich eine leichte Verminderung der Laktose feststellen konnte, ich immer wahrnahm, daß die Milchprobe bei der kulturellen Prüfung mehr oder weniger bedeutende Quantitäten Keimkolonien aufwies.

Nachstehend einige Daten meiner Versuche:

Tabelle X. Kuhmilch.

	Stunden des Verweilens im Brutofen bei 38°	Zuckergehalt in Prozenten	Zuckergehalt der kaum gemolkenen Milch
10 ccm Milch + Formalin:			
1—5000	24	4,78	4,80
1—5000	39	4,65	4,60
1—5000	60	4,92	4,95
1—500	22	4,74	4,72
1—500	40	4,98	5,00
1—500	36	4,90	4,90
10 ccm Milch + Wasserstoffsuperoxyd:			
1—250	25	4,80	4,80
1—250	38	4,90	4,92
1—250	40	4,75	4,78
1—25	36	4,42	4,40
1—25	60	4,48	4,50
1—25	26	4,60	4,60
Nachprüfung	22	4,50	4,90
„	24	4,45	4,75
„	36	4,25	4,80
	*	*	*

Aus der Gesamtsumme meiner Nachforschungen glaube ich nun schließen zu können, daß der Zusatz von

**Formalin und Wasserstoffsuperoxydlösungen zur Milch in den gegebenen Proportionen keine bemerkenswerte Modifikation der in der Milch vorhandenen und von mir untersuchten löslichen Fermente hervorruft.**

Zur Vervollständigung der von mir unternommenen Untersuchung schien es mir angebracht zu sein, das Verhalten der mit Formalin und Wasserstoffsuperoxyd vermengten Milch auch bei künstlicher Verdauung einiger Fermente (Pepsin und Pankreatin) nachzuweisen, um so mehr, als die Forscher, die (was das Formalin anbetrifft) diesen Weg eingeschlagen haben, im allgemeinen zu ihren Versuchen starke Dosen verwandt haben.

So beobachteten Weigel und Merckel (26), daß in einer mit Formalin vermengten Milch die Verdauung des Pepsins ziemlich hintangehalten wird. Nach Beneicenti werden die Formaldehydverbindungen aller albuminoiden, von ihm untersuchten Körper weder von Pepsin noch von Trypsin angegriffen. Zu fast denselben Schlüssen gelangten Moberg, Goldsmith, Lepierre und Schwarz (27).

(Schluß folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Die Vaccination gegen Diphtherie.

Vorläufige Mitteilung<sup>1)</sup>.

Von

**Prof. Dr. Ivo Bandi,**  
Dozent für Hygiene und Kondirektor  
des Institutes für Serotherapie in  
Toscana.

und

**Prof. Dr. Enrico Gagnoni,**  
Dozent für Pädiatrie und Direktor der  
Kinderabteilung der kgl. medizinischen  
Universitätsklinik in Siena.

Uebersetzt von Dr. Kurt Tautz-Berlin.

Die Seroprophylaxe der Diphtherie, deren Anwendung in den letzten Jahren sich immer mehr verbreitet hat, bildet ohne Zweifel eine sehr mächtige Waffe in der Hand der modernen Hygiene zum Schutze gegen eine der schrecklichsten Krankheiten, die das Kindesalter bedrohen. Ihre Wirksamkeit, von der man sich schon bei zahlreichen Gelegenheiten überzeugt hatte, wurde auf dem Internationalen Kongreß für Hygiene in Brüssel besonders durch die gewichtige Stimme Loefflers definitiv festgestellt. Auf demselben Kongreß schloß der italienische Referent, Dr. Pavone, seinen Bericht über die Resultate der Seroprophylaxe der Diphtherie in Italien im Jahre 1902 mit der Bemerkung, daß die unbestreitbare Wirksamkeit und die Unschädlichkeit der präventiven Injektionen von Diphtherieheilserum ihre gesetzliche Einführung wenigstens in den Fällen rechtfertigten, in welchen es aus sanitären Gründen als notwendig anerkannt würde.

Die Fortschritte, die in den letzten Jahren in der Serotherapie der Diphtherie gemacht worden sind, haben der prophylaktischen Wirkung des Heilserums eine starke Stütze gegeben. Um diese Fortschritte hat sich besonders der eine von uns (Bandi) verdient gemacht, der als

1) Der kgl. Akademie der Fisiocritici zu Siena in der Sitzung vom 30. Juni 1905 vorgelegt.

erster gezeigt hat, welchen unbestreitbaren Wert man bei der Sero-therapie der Diphtherie den antibakteriellen außer den antitoxischen Prinzipien zuschreiben muß. Die Notwendigkeit der Einführung ausreichender Mengen spezifischer Antikörper sowohl in den diphtheriekranken Organismus zu Heilzwecken als auch in den gesunden zur Prophylaxe wird klar und deutlich nicht nur durch die positiven Resultate bei Diphtheriefällen bewiesen, die zu Demonstrationszwecken mit fast ausschließlich antibakteriellen Heilseren behandelt waren, und ferner nicht nur durch die günstigen Erfolge, die man in diesem Jahre mit bivalentem Heilserum erhalten hatte, sondern auch durch die Tatsache, daß in Wirklichkeit in den ausnahmsweise schweren Diphtheriefällen der Loefflersche Bacillus eine größere Tendenz hat, sich in dem von ihm befallenen Organismus auszubreiten, als man es sonst beobachtet. Zum Beweise dessen genügt ein rascher Blick in die hierüber existierende Literatur. In der Tat berichtet Babes über zwei Diphtheriefälle mit Vorkommen des Loefflerschen Bacillus in den inneren Organen; Escherich fand zweimal denselben Bacillus in den Nieren von Diphtherieleichen; Paltauf und Kolisko fanden ihn einmal in der Milz, Behring und Wernicke wiesen ihn in einem Falle in allen inneren Organen nach; Frosch fand in 10 von 15 untersuchten Fällen den Diphtheriebacillus im Blute und in den inneren Organen, und zwar häufiger in der Milz, in den cervikalen und bronchialen Lymphdrüsen, wie auch in den bronchopneumonischen Herden, weniger häufig dagegen im Gehirn, Pericardium, Pleuraflüssigkeit, Nieren, Leber und dem Herzblute. Derselbe Autor teilt ferner mit, daß auch Pfeiffer den Loefflerschen Bacillus mehrmals im Herzblute und zwar in beträchtlicher Menge antraf. Außerdem fanden den Diphtheriebacillus in sehr vielen Fällen in der Milz, dem Blute und den Lungen von Diphtherieleichen Kutscher, Kunsthake, Stephens, Howard, Hexner, Booker, Federici, Bulloch, Schmorl, Baginsky, Councilman, Mallory, Pierre, Comba, Pacchioni. Die Feststellung dieser Tatsache durch eine so große Zahl namhafter Beobachter läßt uns, abgesehen von einer spezifischen lokalen Behandlung des diphtherischen Prozesses, die Notwendigkeit, große Mengen von Antikörpern in den Kreislauf zu bringen, als durchaus berechtigt erscheinen, wie auch schon Prof. Concetti auf dem V. italienischen Kongreß für Pädiatrie hervorgehoben hat; und zwar wird dies dort um so notwendiger sein, wo man das Serum zu prophylaktischen Zwecken anwenden will, wo es sich also darum handelt, den empfänglichen Organismus für die Entwicklung des Loefflerschen Bacillus ungeeignet zu machen.

Mag man jedoch mit den spezifischen Seris einen gewissen Grad von Immunität erhalten, so wissen wir doch aus allgemeinen Grundsätzen, daß diese Art von erworbener Immunität nur während eines begrenzten Zeitraumes gegen die Krankheit Schutz gewährt, und zwar hängt dies wieder von verschiedenen Faktoren ab, unter denen an erster Stelle die individuelle Aktivität zu nennen ist, mit der der Organismus die mit dem Serum injizierten spezifischen Antikörper als heterogene Substanzen ausscheidet. Hinsichtlich der Seroprophylaxe der Diphtherie genügt es, vor allem die klassischen Versuche von Müller zu erwähnen, welcher 19 Kindern 250–5000 I.-E. Serum injiziert hatte. Die injizierten Antitoxine drangen in das Blut ein und verblieben dort kürzere oder längere Zeit. Ihre Ausscheidung begann nach kurzer Zeit, aber unabhängig von der einverleibten Menge.

Von 2 Kindern, die 1000 I.-E. bekommen hatten, besaß das Blut des einen noch nach 17 Tagen einen hohen antitoxischen Wert, bei dem anderen dagegen war dieser antitoxische Wert schon nach 5 Tagen beträchtlich vermindert. Deshalb kann man nur innerhalb gewisser Grenzen die Dauer und den Wert der Immunität mit der Menge der einverleibten spezifischen Prinzipien in Beziehung bringen. Müller beobachtete, daß man bei Kindern, die mit 250 I.-E. immunisiert waren, im Blute antitoxische Eigenschaften bis zum 6. Tage, bei anderen, die mit 1000 I.-E. immunisiert waren, diese Eigenschaften bis zum 7., 9. und 17. Tage konstatieren konnte. Während bei einem Kinde die Injektion von 5000 I.-E. dem Blute bis zum 31. Tage einen großen antitoxischen Wert verlieh, hielt in einem ähnlichen Falle diese antitoxische Wirkung nur sehr kurze Zeit an. In einem Falle, wo einem Kinde zu wiederholten Malen 250 I.-E. eingespritzt waren, bewahrte dasselbe seine Antitoxine bis zum 28. Tage nach der zweiten Injektion. Diesen Versuchsergebnissen Müllers entsprechen meine Beobachtungen, die ich jüngst in 3 Fällen von bakteriologisch festgestellten Diphtherieerkrankungen gemacht habe.

In einem von diesen Fällen, in welchem in 3 Tagen 3000 I.-E. bivalenten Antidiphtherieserums injiziert waren, fand man noch 20 Tage nach der letzten Injektion spezifische Prinzipien im Blute zirkulieren; und zwar in solchem Maße, daß 1 ccm Blutserum, das in dieser Zeit entnommen war, Meerschweinchen von 250–300 g Gewicht gegen die Injektion der doppelten kleinsten tödlichen Dosis Diphtherietoxins und gegen die Einimpfung einer sicherlich sonst tödlich wirkenden Menge einer Diphtherieagarkultur schützte. Im zweiten Falle, in dem nur 1000 I.-E. zur Verwendung gekommen waren, fand man nach 20 Tagen dasselbe antitoxische und antibakterielle Vermögen wie im ersten.

Die dritte Beobachtung betraf ein Mädchen von ungefähr 20 Jahren, das an einer Form von gangränöser Angina erkrankt war, bei der sich die Loefflerschen Bacillen zusammen mit Streptokokken vorfanden. Diese Patientin erhielt im Laufe von 4 Tagen ungefähr 10000 I.-E. bivalenten Diphtherieheilserums. Am 20. Tage nach der letzten Injektion zeigte ihr Blutserum einen relativ kleinen antitoxischen und antibakteriellen Wert, da 1 ccm desselben den Meerschweinchen nur gegen die einfache minimale letale Toxindosis Schutz verlieh und nicht im stande war, sie auch gegen eine sicher zum Tode führende Menge von Diphtheriebacillen zu schützen. Diese unsere Resultate bestätigen einerseits die Müllerschen Versuchsergebnisse, daß nämlich die größere oder geringere Labilität der passiven durch Injektionen von spezifischem Serum verliehenen Immunität nicht immer von der größeren oder geringeren Menge der injizierten spezifischen Antikörper abhängt, andererseits zeigen sie klar und deutlich, daß bei diphtheriekranken Organismen die Injektion übermäßiger Mengen von Antikörpern das Zustandekommen der aktiven Immunität verhindern kann, wahrscheinlich weil die vom Loefflerschen Bacillus produzierten spezifischen Gifte fast ganz und gar neutralisiert werden und so das notwendige Agens fehlt, welches sonst die dazu bestimmten Körperzellen zur Erzeugung von Antikörpern veranlassen soll.

Die allgemein anerkannten Vorstellungen von Immunitätsvorgängen, daß nämlich eine passive mittels spezifischer Sera erzeugte Immunisierung nur von sehr kurzer Dauer ist, und ferner, daß man, wenn es sich um eine prophylaktische Immunisierung handelt, bei der Diphtherie ebenso wie bei den anderen Infektionen mehr gegen das spezifische Agens als

gegen seine Produkte energisch und gründlich immunisieren muß — alle diese Umstände bringen uns auf den Gedanken, daß es auf irgend eine Art und Weise möglich sein muß, mittels der endocellulären, im Körper der Loefflerschen Bacillen enthaltenen Gifte eine Vaccination gegen die Diphtherie auszuführen. Eine praktische Methode, um die intracellulären Bestandteile der Bakterienkörper frei zu machen, ist von Allan Macfadyen und Sydney Rowland ersonnen worden; sie besteht in der mechanischen Zerkleinerung der Keime, die durch Gefrierenlassen mittels flüssiger Luft bis zum äußersten verreibbar gemacht worden sind. Mittels dieser Methode kann man die Mikroorganismen pulverisieren und so die endocellulären Gifte austreten lassen.

Da uns die Mittel zur Ausführung der Macfadyen- und Rowlandschen Methode fehlten, so haben wir uns einer einfachen Methode, die uns schon früher bei der Herstellung anderer bakterieller Vaccine gute Dienste geleistet hatte, bedient. Nachdem wir einige kleine technische Modifikationen angebracht hatten, gestaltete sich unsere Methode folgendermaßen. Vom Loefflerschen Bacillus wurden Agarkulturen angelegt und im Thermostaten bei einer Temperatur von  $35^{\circ}$  gehalten. Nach 4 Tagen wurden sie herausgenommen und mit 0,75-proz. Kochsalzlösung, der 0,25 Proz. kohlen sauren Natrons hinzugefügt war, übergossen, und zwar so, daß ungefähr 1 ccm Flüssigkeit auf 1 qcm Kulturoberfläche kam. Darauf wurde der Kulturbelag abgeschabt und das Ganze in kleine Röhrchen geschüttet, die dann im Wasserbade einer Temperatur von  $55^{\circ}$  ausgesetzt wurden. Nach 2 Stunden war das so präparierte Material extrahiert. Um sich von seiner Sterilität zu überzeugen, legte man Kulturen an und machte bei empfänglichen Tieren Injektionen; alsdann wurde das Vaccin 2 Tage lang im Dunkeln bei der Temperatur der Umgebung unter zeitweisigem Umschütteln belassen. Nach Verlauf der beiden Tage ließ man nach dem letzten Umschütteln der Röhrchen ihren Inhalt sich ca. 5 Minuten lang absetzen und goß dann die über der am Boden liegenden Bakterienmasse stehende Flüssigkeit ab. Sie hatte eine weißliche Farbe und enthielt infolge eines natürlichen autolytischen Prozesses, dessen Wirkung durch das hinzugefügte Alkali noch gesteigert war, eine beträchtliche Menge endocellulärer Gifte und außerdem eine gewisse Zahl von toten, größtenteils zertrümmerten Bakterienkörpern. Diese Flüssigkeit nun bildete unsere Antidiphtherielympe, deren Wirkung wir zunächst an Tieren untersuchten. Alle diejenigen, welche sich besonders mit der Immunisierung der Versuchstiere gegen die endocellulären im Loefflerschen Bacillus enthaltenen Gifte beschäftigten (Bandi, Wassermann, Martin, Rister etc.), haben einstimmig bei allen diesen Tieren eine sehr große Empfindlichkeit diesen Giften gegenüber konstatiert. Diese Beobachtung haben die mit unserem Impfstoffe angestellten Versuche bestätigt. Einige Meerschweinchen, denen subkutan Antidiphtherievaccin in Dosen zwischen 1 und 2 ccm eingeimpft und in einem Abstände von 10 bis 15 Tagen nach der Vaccination die kleinste letale Diphtherietoxindosis oder die tödliche Dosis einer Diphtherieagarkultur injiziert war, gingen konstant zu Grunde, und zwar in einigen Fällen noch früher als die entsprechenden Kontrolltiere.

Um die Immunisierung der Meerschweinchen mittels unseres Vaccins zu bewerkstelligen, mußten wir sie allmählich an die Endotoxine des Diphtheriebacillus gewöhnen. Wir stellten zu diesem Zwecke zunächst eine Emulsion des Loefflerschen Bacillus in destilliertem Wasser her;

nach anhaltendem Schütteln und Filtration durch Liliputfilter wurde sie injiziert. In dieses Filtrat war infolge eines natürlichen osmotischen Prozesses eine gewisse Menge von Impfstoffen übergegangen. Die Meerschweinchen, die an diese aktiven Prinzipien gewöhnt und in der Folge mit dem Antidiphtherievaccin geimpft worden waren, zeigten einen starken Grad von Resistenz gegen den Loefflerschen Bacillus und seine Toxine. Beim Uebergange vom Meerschweinchen zum Menschen mußten wir der geringen Empfindlichkeit desselben den Diphtheriegiften gegenüber Rechnung tragen; wir injizierten daher verhältnismäßig große Mengen von Impfstoff, um die Reaktion des menschlichen Organismus den Diphtherieplasmotoxinen gegenüber zu prüfen.

Zu diesem Zwecke injizierten wir uns, nachdem wir mittels Injektion bei empfindlichen Tieren das Fehlen irgend welcher spezifischer Eigentümlichkeiten unseres Blutes konstatiert hatten, im rechten Hypochondrium subkutan je  $2\frac{1}{2}$  ccm des Antidiphtherievaccins.

Diese Injektion rief bei dem einen von uns weder eine lokale noch allgemeine Reaktion hervor; es zeigte sich nur ein leichter Grad von Schmerzhaftigkeit und eine kleine Verhärtung an der Injektionsstelle, Erscheinungen, die nach 2 Tagen wieder verschwanden. Bei dem anderen entstand ein umschriebenes Oedem und eine Temperatursteigerung, die einige Tage dauerte. Am 7. Tage nach der Impfung machten wir einen Aderlaß, wobei von jedem 20 ccm Blut entnommen wurden. Das Blutserum desjenigen, der eine größere Reaktion gezeigt hatte (Gagnoni), schützte in einer Dosis von 1 ccm Meerschweinchen, denen die doppelte minimale letale Diphtherietoxindosis und die einfache tödliche Dosis der Diphtherieagarkultur injiziert war.

Das Serum des anderen zeigte sich weniger aktiv; es schützte Meerschweinchen gegen die einfache minimale letale Dosis des Toxins und der Diphtherieagarkultur. Diese vorläufigen Versuche bewiesen uns schon deutlich, daß für die Diphtherie dasselbe gilt, was schon für andere Infektionen zuerst Salmon und Smith, dann Gruber, Pfeiffer, Metschnikoff, Bordet u. a. gezeigt hatten, daß nämlich die Injektion getöteter ebenso wie die lebender Mikroorganismen und ihrer Endotoxine in dem betreffenden Organismus die Bildung antibakterieller Prinzipien veranlaßt. Außerdem konnten wir im Körper der Vaccinierten auch einen gewissen Grad von antitoxischer Immunität konstatieren. Wir erklären uns diese Erscheinung dadurch, daß unser Impfstoff gewisse Mengen von bakteriellen Stoffwechselprodukten enthält, die an den Bakterienkörpern haften; bei diesen Produkten wird nun durch die Wärme, der das Vaccin ausgesetzt wird, die toxophore Gruppe zerstört, während die haptophore unverändert bleibt; die letztere ist nun schon an und für sich im stande, die dazu bestimmten Zellgruppen zur Bildung einer gewissen Menge von Antitoxin anzuregen. Da unsere Versuche jetzt eine gewisse praktische Bedeutung gewannen, so mußten wir sie etwas weiter ausdehnen, was wir natürlich nur innerhalb der erlaubten Grenzen taten. Wir haben daher außer unseren beiden Fällen noch 14 andere Fälle gesammelt, bei denen wir die nach der Injektion unseres Vaccins eintretenden Reaktionen und das Auftreten der antibakteriellen und antitoxischen Immunität noch eingehender studieren konnten. Bei den ersten 7 Fällen injizierten wir das reine Vaccin, bei den anderen 7 führten wir die Serovaccination aus, wie man sie schon bei der Pest (Fermi und Bandi, Calmette und Salimbeni), beim Milzbrand

(Sclavo und Sobernheim), beim Schweinerotlauf (Lorenz, Leclainche) und bei der Schweinepest (Schreiber, Wassermann, Ostertag) angewandt hatte, um so die geimpften Tiere während der Zeit, in der die durch die Vaccination erzeugte Immunität noch nicht den gehörigen Grad erreicht hatte, gegen eine eventuell von der Außenwelt kommende Infektion zu schützen.  
(Schluß folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Ein Beitrag zu der Frage über die Immunität gegen die Infektion mit Tuberkulose.

[Aus dem Zoologischen Laboratorium der Akademie der Wissenschaften in St. Petersburg.]

Von **S. Metelnikoff.**

In meinem vorigen Aufsätze über die Tuberkulose der Bienenmotte hatte ich nachgewiesen, daß dieses Insekt über eine zweifellose Immunität gegen die Tuberkulose des Menschen, der Rinder und der Vögel verfügt. Diese Immunität läßt sich aller Wahrscheinlichkeit nach durch den Umstand erklären, daß der Organismus der Raupe ein spezielles Ferment enthält, welches im stande ist, Wachs und Wachshülle der Tuberkelbacillen aufzulösen.

Ist diese Annahme richtig, so fragt es sich, wie dann der Umstand zu erklären wäre, daß bei der Injektion von Fischtuberkulose die Raupen ziemlich rasch zu Grunde gehen, indem sie nicht im stande sind, den Bacillus der Fischtuberkulose zu zerstören.

Es ist mir gelungen, verschiedene Kulturen der Fischtuberkulose zu erhalten, welche alle die Raupen in verschiedenen Zeiträumen töteten. Die größte Virulenz zeigte eine Kultur im Alter von  $1\frac{1}{2}$ —2 Monaten. Dieselbe tötete Raupen in 3 Tagen.

Bei der Untersuchung des Blutes und der Organe einer mit solcher Tuberkulose infizierten Raupe fand ich keine in der Auflösung begriffene Tuberkelbacillen. Nur ein oder zweimal gelang es mir, gebräunte oder deformierte Bacillen in den Leukocyten zu entdecken.

Bei der Injektion weniger virulenter Kulturen, von welchen die Raupen in 7, 10 und 14 Tagen zu Grunde gingen, fand ich in der Zerstörung begriffene Bacillen viel häufiger und in größerer Menge.

Allein neben dieser Zerstörung der Bacillen beobachtete ich auch noch die Erscheinung, daß die Mehrzahl der Leukocyten, welche Bacillen verschluckt hatten, vollständig nekrotisiert war.

Es ist demnach klar, daß der Organismus der Raupe wohl dazu befähigt ist, die Bacillen der Fischtuberkulose aufzulösen, und wenn er nicht im stande ist, sie definitiv zu vernichten, dieses wahrscheinlich darauf beruht, daß die Bacillen ein starkes Toxin ausscheiden, durch welches die Leukocyten rasch zu Grunde gehen.

Diese Annahme wird durch Versuche mit abgestorbener Fischtuberkulose (welche durch Erhitzen getötet wurde) bestätigt.

Bei der Injektion toter Tuberkelbacillen werden diese letzteren rasch von der Raupe mit Hilfe der Leukocyten und Kapseln aufgelöst, von welchen die Bacillen in dunkelbraunes Pigment verwandelt werden.



Die Versuche mit Fischtuberkulose widersprechen demnach der These in keiner Weise, daß die Raupen im stande sind, die Tuberkelbacillen gerade aus dem Grunde zu zerstören, weil sie die Fähigkeit besitzen, Wachs aufzulösen.

Dieser Satz würde sich noch einleuchtender gestalten, wenn es gelingen würde, zu beweisen, daß die Leukocyten der Raupen im stande sind, das Tuberkulosewachs unabhängig von den Bacillen aufzulösen.

Dank dem lebenswürdigen Entgegenkommen von Frau N. O. Siber-Schumowa ist es mir gelungen, aus dem chemischen Laboratorium des Institutes für experimentelle Medizin ein ziemlich beträchtliches Quantum von Tuberkulosewachs zu erhalten. Es kam nun darauf an, eine Methode zu finden, um dieses Wachs in den Organismus der Raupe einzuführen.

Es gelang mir, eine gute Emulsion von Tuberkulosewachs auf folgende Weise zu erhalten. Auf 1 g Wachs nimmt man 1 g Gummi arabicum. Diese Mischung wird in einen auf 50° erhitzten Mörser gebracht und gut verrieben. Nachdem sich eine gleichartige Masse gebildet hat, fügt man allmählich warme physiologische Kochsalzlösung hinzu, indem man die Masse in dem Mörser fortwährend verreibt. Die Quantität der hinzugefügten physiologischen Lösung beträgt 50—1000 g, je nachdem welche Dichtigkeit der Emulsion erzielt werden soll.

Nach der Injektion der auf diese Weise gewonnenen Emulsion untersuchte ich das Blut und die Organe der Raupe nach bestimmten Zeitintervallen, und zwar auf Schnitten wie auch auf Strichpräparaten.

Bereits 2—3 Stunden nach erfolgter Injektion fand ich in der Leibeshöhle der Raupe vielkernige Plasmodien von ungeheurer Größe. Nach 1, 2, 3 Tagen bildet sich eine große Anzahl solcher Plasmodien. Diese stimmen alle mit den Plasmodien überein, welche ich bei der Injektion von Tuberkelbacillen beschrieben habe, nur sind sie bedeutend größer und niemals von spindelförmigen Zellen und Kapseln umgeben.

Offenbar wirkt das Tuberkulosewachs in ganz spezifischer Weise auf die Blutkörperchen, indem es dieselben veranlaßt, sich zu ungeheuren vielkernigen Körpern zu vereinigen. Innerhalb der Plasmodien fand ich Tuberkulosewachs auf verschiedenen Stadien des Zerfalles. Nach 1—2 Tagen ist ein großer Teil des Wachses bereits aufgelöst und in eine dunkelbraune, halbflüssige Masse verwandelt, welche jenem dunklen Pigment ganz ähnlich ist, welches bei der Injektion von Tuberkelbacillen beobachtet wurde. Nach Verlauf von einigen Tagen tritt das Pigment ganz ebenso in die perikardialen exkretorischen Zellen über.

Es unterliegt demnach keinem Zweifel, daß der Organismus der Raupe die Fähigkeit besitzt, Tuberkulosewachs aufzulösen, was seinerseits die Ursache davon ist, daß die Tuberkelbacillen mit solch überraschender Geschwindigkeit zerstört werden.

Wenn sich dies so verhält, dann drängt sich naturgemäß die Frage auf, ob wir nicht das Blut und Extrakte, welche aus Raupen gewonnen werden, für die Immunisierung anderer Tiere gegen Tuberkulose verwenden könnten.

Zur Beantwortung dieser Frage führte ich eine ganze Reihe von Versuchen aus. Viele derselben konnten noch nicht zu Ende geführt werden; nichtsdestoweniger habe ich mich dazu entschlossen, einige meiner Versuche zu veröffentlichen, indem die bisher erzielten Resultate immerhin einiges Interesse bieten.

Für die Immunisierung verwandte ich Blut und Extrakte, welche



**Meerschweinchen No. 21.**

Datum	10. XI.	12. XI.	16. XI.	22. XI.	29. XI.	3. XII.	8. XII.
Gewicht	635	630	640	688	595	502	470

Ging ein am 14. XII.

**Meerschweinchen No. 22.**

Datum	10. XI.	12. XI.	16. XI.	22. XI.	29. XI.	3. XII.	8. XII.	16. XII.
Gewicht	530	450	450	472	483	455	420	422

Datum	19. XII.	28. XII.	2. I.
Gewicht	402	400	385

Ging ein am 7. I. 1906.

**Versuch III.** 4 Meerschweinchen wurde am 29. November 1905 je  $\frac{1}{2}$  ccm Tuberkulemulsion in die Bauchhöhle eingeführt.

**Meerschweinchen No. 31.**

Datum	29. XI.	3. XII.	8. XII.	12. XII.	16. XII.	19. XII.	28. XII.	31. XII.
Gewicht	462	490	465	398	390	417	395	400

Datum	2. I.	7. I.	10. I.	14. I.	19. I.	23. I.	27. I.	30. I.	27. IV.
Gewicht	395	370	420	405	402	415	440	458	500

Dieses Meerschweinchen wurde 10mal an folgenden Daten injiziert: 3. XII.; 8. XII.; 12. XII.; 16. XII.; 20. XII.; 28. XII.; 2. I. 1906; 7. I.; 16. I.; 3. II. Lebt bis zum heutigen Tage.

**Meerschweinchen No. 32.**

Datum	29. XI.	3. XII.	8. XII.	12. XII.	16. XII.
Gewicht	435	460	450	430	420

Ging ein am 18. XII. 1905.

**Meerschweinchen No. 33.**

Datum	29. XI.	3. XII.	8. XII.	12. XII.	16. XII.	19. XII.	28. XII.	31. XII.
Gewicht	405	390	390	435	404	418	393	400

Datum	2. I.	7. I.	10. I.	14. I.	19. I.
Gewicht	335	390	385	400	370

Ging ein am 20. I. 1906.

Dieses Meerschweinchen wurde 7mal mit Blut und Extrakten an folgenden Daten injiziert: 8. XII.; 16. XII.; 20. XII.; 28. XII.; 2. I.; 7. I.; 16. I.

**Meerschweinchen No. 35.**

Datum	29. XI.	3. XII.	8. XII.	12. XII.	16. XII.	19. XII.
Gewicht	585	618	618	640	608	695

Ging ein am 25. XII.

**Versuch IV.** 2 Meerschweinchen wurden in 2 Terminen mit Blut und Extrakten von Raupen (16. XI. und 25. XI.) und sodann am 29. XI. mit Tuberkulose in das Peritoneum injiziert:  $\frac{1}{2}$  ccm.

**Meerschweinchen No. 25.**

Datum	16. XI.	22. XI.	29. XI.	3. XII.	8. XII.	12. XII.	16. XII.	19. XII.
Gewicht	417	412	416	425	433	490	460	455

Datum	28. XII.	31. XII.	2. I.	7. I.	10. I.	14. I.	19. I.	23. I.	27. I.
Gewicht	480	500	499	505	480	495	500	518	523

Lebt bis zum heutigen Tage.

**Meerschweinchen No. 27.**

Datum	16. XI.	22. XI.	29. XI.	3. XII.	8. XII.	12. XII.	16. XII.	19. XII.
Gewicht	453	440	448	453	430	470	452	405

Datum	28. XII.	31. XII.	2. I.	7. I.	10. I.	14. I.	19. I.	23. I.	27. I.
Gewicht	472	487	475	487	475	470	470	468	470

Lebt bis zum heutigen Tage.

**Meerschweinchen No. 28.**

Dieses Meerschweinchen wurde am 29. XI. mit Tuberkulose in das Peritoneum injiziert.

Datum	29. XI.	3. XII.	8. XII.	12. XII.	16. XII.	19. XII.	28. XII.	31. XII.
Gewicht	402	415	398	354	342	328	340	310

Datum	2. I.	7. I.
Gewicht	308	290

Ging ein am 10. I. 1906.

Meerschweinchen No. 29.

Dieses Meerschweinchen wurde am 9. XI. mit Tuberkulose in das Peritoneum injiziert.

Datum	29. XI.	3. XII.	8. XII.	12. XII.	16. XII.	19. XII.	28. XII.	31. XII.
Gewicht	400	420	448	490	410	370	360	347
			Datum	2. I.	7. I.	10. I.	14. I.	
			Gewicht	323	330	308	299	

Ging ein am 15. I.

Ich enthalte mich einstweilen davon, irgend welche Schlußfolgerungen aus den oben angeführten Versuchen zu ziehen, indem diese letzteren noch zu wenig zahlreich sind, um weitergreifende Verallgemeinerungen zu gestatten.

Wenn die von mir bis jetzt erzielten Resultate durch weitere Versuche bestätigt werden sollten, so wird sich in diesem Falle die Möglichkeit bieten, einem mit Tuberkulose infizierten Organismus durch Injektion von Blut und Extrakten aus Bienenmottenraupen eine passive Immunität zu verleihen.

Man wird sich jedoch bei einer sich so sehr in die Länge ziehenden und leicht wiederkehrenden Erkrankung, wie sie die Tuberkulose darstellt, wohl kaum mit einer passiven Immunität begnügen können. Zuverlässigere Erfolge können wir nur von der aktiven Immunisierung erwarten, welche ja überhaupt dauerhaftere Resultate ergibt. Aus diesem Grunde habe ich es versucht, einem Tiere aktive Immunität zu verleihen, wobei ich von dem Gedanken ausging, welcher meiner Arbeit zu Grunde liegt. Dieser Gedanke besteht darin, daß die Verdauung und Zerstörung der Tuberkelbacillen nur in dem Falle möglich ist, wenn der Organismus über spezielle Fermente verfügt, welche dazu befähigt sind, die Wachshülle der Bacillen aufzulösen.

Derartige Fermente finden sich bei der Bienenmotte, welche sich von Wachs nährt.

Wenn es möglich wäre, eine solche aktive Immunität zu schaffen, bei welcher die Zellen anderer Tiere im stande wären, ebenso Tuberkulosewachs zu verdauen, wie dies bei den Raupen der Bienenmotte der Fall ist, so würden diese Tiere offenbar die Tuberkelbacillen zerstören und verdauen können.

Diese Aufgabe erscheint nicht mehr völlig unlösbar nach den bekannten Arbeiten von Bordet, Metschnikoff, Ehrlich und Morgenroth u. a., denen es gelungen ist, eine ganze Reihe spezifischer Fermente durch Einführung verschiedener fremder Zellen und Substanzen in den Organismus zu erhalten.

Wäre es nun nicht möglich, unter Anwendung der gleichen Methoden den Organismus an die Verdauung des Tuberkelbacillus zu gewöhnen?

Von diesen Betrachtungen ausgehend, begann ich auf die eben dargelegte Weise zubereitete Wachsemulsionen unter die Haut und in die Bauchhöhle von Meerschweinchen zu injizieren.

Die Meerschweinchen vertragen diese Injektionen sehr gut. Allerdings bilden sich in der ersten Zeit Abscesse unter der Haut, allein später verlaufen bei fortgesetzter Immunisierung auch Injektionen großer Dosen von Tuberkulosewachs ohne alle Komplikationen.

Ich injizierte das Tuberkulosewachs sowohl solchen Meerschweinchen, welche bereits mit Tuberkulose infiziert waren, als auch solchen, welche erst nach vorhergehender Immunisierung infiziert wurden.

In beiden Fällen ergibt sich bei der Behandlung tuberkulöser Meerschweinchen mit Tuberkulosewachs eine merkliche Verzögerung in der

Entwicklung der Krankheit. Die behandelten Meerschweinchen überlebten die Kontrolltiere um einige Wochen und leben noch bis zum heutigen Tage.

Ogleich alle diese Versuche noch zu wenig zahlreich sind, um entscheidende Schlußfolgerungen zu gestatten, und dabei noch nicht völlig bis zu Ende geführt worden sind, habe ich mich dennoch dazu entschlossen, dieselben im Zusammenhang mit jenen theoretischen Betrachtungen zur Sprache zu bringen, welche den Grund für die von mir unternommenen Untersuchungen abgegeben haben.

---

Die vorliegende Arbeit wurde vor über zwei Monaten der Redaktion eingereicht. Seit dieser Zeit sind verschiedene neue Resultate erzielt worden, über welche ich hier kurz Bericht erstatten möchte.

Von 5 Meerschweinchen, welche ich schon im Oktober und November vergangenen Jahres infiziert und mit Raupenblut behandelt hatte, gingen 3 im Laufe der letzten 2 Wochen ein. Bei der Sektion fand ich keine Tuberkulose (und zwar weder bei der makroskopischen noch bei der mikroskopischen Untersuchung). Die Tiere waren einer Lungenentzündung zum Opfer gefallen. Die zwei anderen Meerschweinchen leben heute noch und haben nicht an Gewicht abgenommen.

Von 2 Meerschweinchen, welche im November und Dezember mit Tuberkulose infiziert und mit Injektionen einer Emulsion von Tuberkulosewachs behandelt worden waren, ging das eine kürzlich ein. Weder bei der makroskopischen noch bei der mikroskopischen Untersuchung konnte ich Tuberkulose konstatieren. Das zweite Meerschweinchen lebt bis zum heutigen Tage. Die Injektion einer Emulsion von Tuberkulosewachs ruft bei tuberkulösen Meerschweinchen eine leichte Temperaturerhöhung hervor.

Außerdem habe ich im Januar und Februar des laufenden Jahres noch 15 Meerschweinchen infiziert und dieselben mit Injektionen von Blut und Wachsemlusionen behandelt. Fast alle diese Tiere überlebten ihre Zeugen um 2—3 Monate und leben auch heute noch.

Das Blut von *Galleria melonella* besitzt die Fähigkeit, Tuberkelbacillen in vitro zu zerstören. Das Blut normaler Raupen wirkt bei der Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung 1 : 15,1 : 20 auf die Tuberkelbacillen ein. Das gegen Tuberkelbacillen immunisierte Raupenblut wirkt viel stärker (bei Verdünnung mit 1 : 30).

Bei dem Erwärmen des Blutes auf 73° und 75° verliert dasselbe im Verlaufe einer halben Stunde die Fähigkeit, auf Tuberkulose einzuwirken. Geringere Temperaturen üben keine Wirkung aus. Das Filtrieren durch ein Chamberlandsches Filter verringert die bakteriolytischen Eigenschaften des Raupenblutes ganz bedeutend.

Alles dieses berechtigt mich zu der Vermutung, ob wir es bei demjenigen Grundbestandteil, welcher auf die Tuberkelbacillen einwirkt, nicht mit Lipase zu tun haben, welcher genau dieselben Eigenschaften besitzt. Diese Vermutung erscheint um so mehr wahrscheinlich, als durch Lipase Fett zersetzt wird, während die Tuberkelbazillen bis zu 40 Proz. Fettsubstanzen enthalten.

---

*Nachdruck verboten.*

## Ein einfaches Verfahren zur Färbung der Sporen.

[Mitteilung aus dem Institut für allgemeine Pathologie und Therapie der königl. ungar. Universität Budapest.]

Von cand. med. **Oscar Ország**, Praktikant des Instituts.

Bei der Entscheidung der Frage, ob ein sporenähnliches Gebilde wahrhaftig eine Spore sei, spielt bekanntlich die Sporenfärbung keine große Rolle. Eine endgültige, sichere Entscheidung dieser Frage ist nur durch Feststellung einer bedeutend größeren Widerstandsfähigkeit, oder durch Beobachtung der Sporenkeimung zu treffen. Die Ausführung dieser Untersuchungen beansprucht aber ziemlich viel Zeit und Mühe, weshalb der färberische Nachweis der Sporen in der bakteriologischen Praxis doch häufig Anwendung findet.

Durch einfache Färbungsmethoden gelingt bekanntlich die Färbung der Sporen ob ihrer stark resistenten Membran nicht. Die Behebung dieser Schwierigkeit bildet schon seit lange her das Streben vieler Bakteriologen, die teils durch Anwendung von Hitze, teils durch Einwirkung von Chemikalien dieses Ziel zu erreichen hoffen. Buchner (1), Hierocles (2), Neisser (3), Hueppe (3), Günther (4) und Hauser (5) setzten die Bakterien einer hohen Temperatur stundenlang aus, so daß die Sporenmembran nach Verlust ihrer Resistenz die Aufnahme der Farbstoffe nicht mehr hinderte. Die Bakterien selbst litten aber oft unter dieser energischen Behandlung, indem sie ihre Fähigkeit, sich zu färben, einbüßten. Die Anwendung von Chemikalien, Säuren, ist, wie auch Kollé (6) bemerkt, der starken Erhitzung entschieden vorzuziehen. Dies versuchte zuerst Buchner (7) mit konzentrierter Schwefelsäure und mit einer starken Kalilaugenlösung, Fiocca (8) später mit 10-proz. Ammoniak. Den Wert dieser Methoden charakterisiert Heim (9) folgendermaßen: „Oft wollen aber solche Färbungen gar nicht gelingen. Dutzende von Präparaten kann man anfertigen, ohne die Sporen rot zu erhalten.“ Einen entschiedenen Fortschritt bedeutete Möllers (10) Verfahren mit 5-proz. Chromsäure und Chlorzinkjodid, welches die auf die Anwendung von Hydrogenhyperoxyd, Natriumdioxyd und  $\frac{1}{2}$ -proz. Salzsäure sich gründenden Methoden von Foth (11), Bunge (12) und Aujeszký (13) kaum zu verdrängen vermochten. Klein (14) und Marx (15) färbten die Sporen in feuchtem Zustande mit erwärmter Farblösung.

Alle diese Methoden, vielleicht mit Ausnahme der letzterwähnten, haben den gemeinsamen Fehler, daß man nur bei einer gewissen Uebung brauchbare Präparate erhält. Bis vor 4—5 Jahren verging kaum ein Jahr, in welchem nicht Mitteilungen über neue Methoden der Sporenfärbung erschienen, ein Umstand, welcher ebenfalls auf die Unvollkommenheit der bisherigen Methoden hinweist.

Ich will hoffen, daß die Veröffentlichung meines neuen Verfahrens, zu dem ich während meiner Untersuchungen über die morphologischen Eigenschaften der Bakterien gelangte, nicht ganz ohne Interesse ist. Den größten Vorteil meines Verfahrens sehe ich darin, daß selbst Anfänger meist sofort schöne Präparate erhalten, welcher Umstand damit zu erklären ist, daß die Zeitdauer der bei dem Verfahren Rolle spielenden chemischen und thermischen Einwirkungen zwischen weiten Grenzen

schwanken kann, das Präparat daher nicht der Gefahr ausgesetzt ist, wegen zu kurzer oder zu lang dauernder Maceration, Färbung oder Entfärbung unbrauchbar zu werden. In zweiter Reihe spricht auch die sämtliche Verfahren übertreffende Kürze und Einfachheit für den Wert der Methode.

Bei Ausarbeitung meiner Methode ging auch ich von dem Grundgedanken aus, daß die Sporenmembran für die Farbstofflösung durchgänglich gemacht werden muß. Zu diesem Zwecke benutze ich ein Gemisch von Natrium salicylicum und Essigsäurelösung. Die Essigsäure hebt die etwas schrumpfende Wirkung der Salicyllösung auf. Die durch den Gebrauch dieser Lösungen macerirte Sporenmembran verhindert nun die Färbung der Spore nicht mehr, indem sie die Farblösung ziemlich leicht durchläßt. Die gefärbte Spore behält ihre Farbe bis zu einem gewissen Grade auch bei Anwendung von Entfärbungsmitteln.

Mein Verfahren ist nun folgendes:

1) Auf dem gründlich gereinigten Deckgläschen werden in einem Tropfen essigsaurer Natriumsalicyllösung ( $\frac{1}{2}$ -proz. Natrium salicylicum 4 Theile + 5-proz. Essigsäure 1 Teil gut vermischt) die zu färbenden Bakterien verteilt. Die Größe des Tropfens muß so gewählt werden, daß nach Ausbreitung des Materials die Schicht auf dem Deckgläschen nach kurzer Zeit trocknet. Das Fixieren geschieht in gewohnter Weise, durch 2—3maliges Durchziehen durch die Flamme eines Bunsenbrenners.

2) Das fixierte Deckgläschen wird nun schwappend mit Ziehlscher Karbolfuchsinlösung bedeckt, über der Flamme eines Bunsenbrenners bis zum Aufsteigen von Dämpfen erwärmt. Nach kurzdauernder Entfernung von der Flamme wird das Verfahren noch einigemal wiederholt, so daß die Färbung in der erhitzten Farblösung insgesamt beiläufig 2 Minuten beansprucht. Doch kann die Färbung auch beschleunigt werden durch Erhitzung bis zur Blasenbildung; die damit verbundenen Unannehmlichkeiten übertreffen aber den durch Zeitersparnis erzielbaren Nutzen.

3) Das rot gefärbte Präparat wird nun mit 1-proz. Schwefelsäure entfärbt, bis es eine schwache rosa Farbe aufweist. Die Gefahr einer schnellen allzustarken Entfärbung, wo selbst die Sporen ihre Farbe abgeben, droht bei Anwendung dieser schwachen Entfärbungslösung nicht.

4) Nach der Entfärbung spült man das Präparat mit Wasser gründlich ab, um sämtliche Säurereste zu entfernen, da diese das Nachfärben beeinträchtigen könnten. Dieses geschieht mit 1-proz. wässrigen Methylenblau oder Malachitgrün 2 Minuten lang. Das abgespülte getrocknete Präparat wird hierauf in Kanadabalsam geschlossen untersucht.

Mein Streben, dieses Verfahren noch zu vereinfachen, gelang insoweit, als ich die Entfärbung mit Schwefelsäure und die Gegenfärbung mit Methylenblau, wie dies schon Fiocca bei seiner Sporenfärbungsmethode und Fränkel und Gabbet bei der Tuberkelbacillenfärbung taten, vereinte. Nach Färbung mit Karbolfuchsin wird das mit Wasser abgespülte Präparat 2 Minuten lang mit einer Schwefelsäure-Methylenblaulösung (gesättigte Lösung von Methylenblau in 1-proz. Schwefelsäure) behandelt.

In den auf diese Weise hergestellten Präparaten findet man die Sporen und säurefesten Körperchen schön rot, die Bakterienleiber blau. Bei Anwendung von Anilinwasser-Fuchsin oder Genvianviolett erhielt ich ebenfalls brauchbare Präparate, in letzterem Falle kann zur Gegenfärbung Bismarckbraun empfohlen werden.

Die Präparate sind gut brauchbar und boten keinen Anlaß zu Klagen, wie solche selbst Möller (16) angibt: „Die Bacillenkörper werden nicht selten vernichtet oder sie schwellen wenigstens auf, zeigen keine deutlichen Konturen mehr und nehmen entweder gar nicht oder nur zum Teil die Nachfärbung an; alles Umstände, welche die Schönheit des Präparates natürlich beeinträchtigen.“

Das geschilderte Verfahren fand ich bei Färbung der Sporen des *B. anthracis*, *B. alvei*, *B. butyricus* Hueppe, *B. megatherium*, *B. mesentericus fuscus*, *B. oedematis maligni*, *B. phlegmones emphysematodis*, *B. subtilis* und *B. tetani* verlässlich. Die zur Kontrolle auf gleiche Weise gefärbten Typhusbacillen, Gonokokken und Staphylokokken zeigten keine Doppelfärbung. Bei Färbung der stärker resistenten Sporen des *B. alvei* und *B. mesentericus* sind einige Aenderungen bei dem Verfahren zu bewerkstelligen, und zwar die Verlängerung der Einwirkungszeit der essigsäuren Natriumsalicyllösung und der Färbung mit Karbolfuchsin. Ersteres ist zu erreichen, indem man die Bakterien in einem größeren Tropfen der erwärmten Lösung verteilt, so daß das Trocknen 8–10 Minuten in Anspruch nehme. Dieselbe Zeit dauere auch die Färbung mit der Ziehlschen Lösung.

Es gelang ferner eine Beize zu bereiten (Karbolfuchsin 6 Teile +  $\frac{1}{2}$  Proz. Natriumsalicyllösung 4 Teile + 5-proz. Essigsäure 1 Teil), mit welcher sich auch die in Wasser verteilten und fixierten Bakterien sporen färbten. Da sich aber diese Lösung nicht gut hält und ihr Gebrauch das Verfahren nicht wesentlich vereinfacht, kann von ihrer Anwendung Abstand genommen werden. Uebrigens löst sich bei meinem Verfahren das auf dem Deckgläschen mit den Bakterien gleichzeitig getrocknete Natrium salicylicum in dem erwärmten Karbolfuchsin, so daß die Färbung eigentlich mit einer salicylhaltigen Karbolfuchsinlösung stattfindet.

Die bei dem Verfahren benutzte essigsäure Natriumsalicyllösung ist wohl aufbewahrt eine Woche lang haltbar. Die mäßig schrumpfende Wirkung einer älteren Lösung verschwindet nach Beimengung einiger Tropfen Essigsäure.

Die Natriumsalicyllösung übt auf die Sporenmembran eine entschieden starke spezifische Wirkung aus. Nur so ist es zu erklären, daß sich die mit dieser Lösung behandelten Bakterien sporen selbst mit kaltem Karbolfuchsin in einigen Minuten, wenn auch etwas schwächer als bei Verwendung von erwärmter Lösung, färben. Bei sämtlichen bisher bekannten Methoden ist, wie Aujeszky (17) schreibt, das physische Agens, die Hitze, mit dem chemischen vereint; bei allen werden erwärmte Farblösungen benutzt. Bisher gelang es nur Ernst (18), die Bakterien sporen nach 10–20-stündiger Chromsäuremaceration mit kalter wässriger Fuchsinlösung zu färben. Auch hat er den Methoden von Ehrlich, Gram und Lustgarten gemäß nach einer 13–23 Minuten dauernden Maceration in Chromsäure und nach 18-stündiger Färbung schöne Präparate erhalten. Dies gelang mir aber schon in einigen Minuten, und nur wegen Zeitgewinn und lebhafterer Färbung ziehe ich die erwärmte Farbstofflösung vor.

Dieser starke Einfluß des Natrium salicylicum auf die Sporenmembran hat mich nun zu weiteren Untersuchungen über den Einfluß der Salicylsäure auf Bakterien bewogen. Dieselben sollen in einer weiteren Mitteilung besprochen werden.



Zum Schlusse erfülle ich eine angenehme Pflicht, indem ich meinem verehrten Chef, Herrn Dozenten Dr. A. von Székely, dem derzeitigen Leiter des Institutes, für das angelegentliche Interesse sowie die sachlichen Ratschläge, mit denen er das Zustandekommen dieser Arbeit förderte, meinen aufrichtigsten Dank auch an dieser Stelle ausspreche.

### Literatur.

- 1) Buchner, Aerztl. Intell.-Blatt. 1884.
- 2) Hierocles, Archiv für Hygiene. Bd. XXVIII.
- 3) c. n. Heim, Bakter. Untersuch. u. Diagnostik. 1894.
- 4) Günther, Einführ. in das Studium der Bakteriologie. 1898. p. 126.
- 5) c. n. 3. p. 193.
- 6) Flügge, Die Mikroorganismen. 1896. p. 542.
- 7) c. n. 3. p. 193.
- 8) Cbl. f. Bakt. u. Parasitenkunde. Bd. XIX. 1893. p. 8.
- 9) l. c. 3. p. 193.
- 10) Cbl. f. Bakt. u. Parasitenkunde. Bd. X. 1891. p. 273.
- 11) Cbl. f. Bakt. u. Parasitenkunde. Bd. XI. 1892.
- 12) Ueber Sporenbildung bei Bakterien. (Fortschr. d. Medizin. 1895.)
- 13) Cbl. f. Bakt. u. Parasitenkunde. Bd. XXIII. 1898. p. 329. Orvosi Hetilap. 1897.
- 14) Cbl. f. Bakt. u. Parasitenkunde. Bd. XXV. 1899. p. 376.
- 15) Cbl. f. Bakt. u. Parasitenkunde. Bd. XXIX. 1900. p. 11.
- 16) l. c. 10.
- 17) l. c. 13. (Orvosi Hetilap. 1897.)
- 18) Cbl. f. Bakt. u. Parasitenkunde. Bd. XVI. 1894. p. 182.

---

*Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einreichung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.*

---

### Inhalt.

- |   |  |
|---|--|
| <p><b>Anitschkow, N. N.</b>, Zur Frage über die Rolle der thermophilen Bakterien im Darmkanal des Menschen, p. 326.</p> <p><b>Bandi, Ivo</b> und <b>Gagnoni, Enrico</b>, Die Vaccination gegen Diphtherie, p. 386.</p> <p><b>Bandini, P.</b>, Die Wirksamkeit des Formalins und des Wasserstoffsuperoxyds in der Milch. (Forts.), p. 379.</p> <p><b>Bertarelli, E.</b>, Ueber die Transmission der Syphilis auf das Kaninchen, p. 320.</p> <p><b>Bongiovanni, Alessandro</b>, Die Negrischen Körper und die durch fixes Virus verursachte Wutinfektion mit langsamem Verlaufe, p. 343.</p> <p><b>Buerger, Leo</b>, Beitrag zur Kenntnis des Streptococcus mucosus capsulatus, p. 314.</p> <p><b>Eijkman, C.</b>, Ueber natürliche Wachstumshemmung der Bakterien, p. 367.</p> <p><b>Eisenberg, Philipp</b>, Weitere Untersuchungen über den Mechanismus der Agglutination und Präzipitation, p. 358.</p> <p><b>Erben, Franz</b>, Ueber aktive Immunität gegen Rhinosklerom- und Pneumobacillen, p. 370.</p> | <p><b>Fuhrmann, O.</b>, Die Hymenolepis-Arten der Vögel, p. 352.</p> <p><b>Ghon, A., Mucha, V. und Müller, R.</b>, Beiträge zur Kenntnis der anaeroben Bakterien des Menschen. IV. Zur Ätiologie der akuten Meningitis. (Forts.), p. 305.</p> <p><b>Kraus, R. und Prantschoff, A.</b>, Ueber Choleravibrionen und andere Vibrionen. III. Ueber die Identität der Hämotoxine und der Toxine, der Vibrionen sowie deren Antitoxine, p. 377.</p> <p><b>Metalnikoff, S.</b>, Ein Beitrag zu der Frage über die Immunität gegen die Infektion mit Tuberkulose, p. 391.</p> <p><b>Mühlens, P. und Hartmann, M.</b>, Zur Kenntnis des Vaccineerregers. (Forts.), p. 338.</p> <p><b>Ország, Oscar</b>, Ein einfaches Verfahren zur Färbung der Sporen, p. 397.</p> <p><b>Sanfelice, Francesco</b>, Ueber die pathogene Wirkung der in die Trachea geimpften Blastomyceten. (Schluß), p. 332.</p> |
|---|--|

## Beiträge zur Kenntnis der anaëroben Bakterien des Menschen.

[Aus dem pathologisch-anatomischen Institute in Wien (Vorstand: Prof. Dr. A. Weichselbaum).]

### IV. Zur Aetiologie der akuten Meningitis.

Von Prof. Dr. A. Ghon, Dr. V. Mucha und Dr. B. Müller.

Mit 2 Tafeln und 5 Textfiguren.

(Fortsetzung.)

In Traubenzuckeragar mit Zusatz von 0,1 Proz. indigoschwefelsaurem Natron war schon in den ersten 48 Stunden totale Entfärbung sichtbar, ohne Gasbildung. Auch bei Zusatz von 1,0 Proz. erfolgte noch Wachstum, doch trat die Entfärbung des Nährbodens langsamer ein, erst nach mehr als 48 Stunden.

Zusatz von Neutralrot in Mengen von 1 und 3 Tropfen zu Agar mit Traubenzucker (1 Proz.) hinderte das Wachstum nicht und es erfolgte totale Entfärbung des Nährbodens schon innerhalb von 48 Stunden; Gasbildung war nicht nachweisbar.

In Lackmus-Mannit-Agar erfolgte Wachstum ohne Gasbildung mit rascher und vollständiger Entfärbung.

Das Bakterium wuchs sowohl bei Brut- ( $37^{\circ}\text{C}$ ) als auch bei Zimmertemperatur ( $21^{\circ}\text{C}$ ), doch erfolgte die Entwicklung bei dieser langsamer als bei jener.

Das Bakterium bildete in den Kulturen Gas, doch war die Menge desselben immer eine sehr geringe und die Entwicklung in den verschiedenen Kulturen eine ganz ungleichmäßige. In den späteren Generationen blieb die sichtbare Gasentwicklung überhaupt aus. Aus diesem Grunde mußte eine Analyse des Gases unterbleiben.

Der Geruch des gebildeten Gases ließ deutlich Schwefelwasserstoff erkennen.

Das Wachstum des Bakteriums erfolgte am besten bei schwach alkalischer Reaktion des Nährbodens. Vergleichende Untersuchungen zeigten, daß bei Zusatz von ca. 0,2–0,3 Proz. Normalnatronlauge zu neutralem Traubenzuckeragar das üppigste Wachstum nachweisbar war. Bei Zusatz von 0,4–0,6 Proz. war schon eine geringe Abnahme der Ueppigkeit erkennbar, bei Zusatz von 0,8 Proz. konnte man nur noch Spuren von Wachstum erkennen, bei Zusatz von 1,0 Proz. erfolgte keine Entwicklung mehr. Aber auch geringe saure Reaktion des Nährbodens hinderte die Entwicklung nicht, allerdings erfolgte diese später als bei neutraler oder schwach alkalischer Reaktion: Bei Zusatz von 0,1 Proz. Normalmilchsäure zu neutralem Traubenzuckeragar konnte erst nach 4-tägiger Beobachtung bei  $37^{\circ}\text{C}$  Entwicklung nachgewiesen werden, die in den nächsten Tagen noch etwas zunahm. Bei Zusatz von 0,2 Proz. Normalmilchsäure war auch nach 4 Tagen Wachstum noch nicht erfolgt, doch konnten nach 6–7 Tagen noch Spuren von Entwicklung nachgewiesen werden.

Die Lebensfähigkeit des Bakteriums in den Kulturen war eine verschieden lange. Kulturen in Traubenzuckeragar hielten sich in der

Regel mehrere Monate lang lebensfähig; dabei war es ziemlich gleichgültig, ob die Kulturen im Eiskasten oder im Brutofen aufbewahrt worden waren. Einmal gelang es uns, eine Kultur in Traubenzuckeragar, die mit Guttaperchaverschluß bei 37° C durch 14 Monate gestanden war, noch mit positivem Erfolge zu übertragen. Das Wachstum war dabei allerdings ein verzögertes und nicht sehr reichliches gewesen.

### Pathogenes Verhalten.

Die gefundene Bakterienart war für junge Meerschweinchen und weiße Mäuse bei subkutaner und intraperitonealer Einverleibung nicht pathogen. Verwendet wurden zu den Versuchen 4 Meerschweinchen im Gewichte von 113–155 g und 4 weiße Mäuse. Die Tiere erhielten von der 7., 8., und 10. Generation 2- und 3-tägige, üppig gewachsene Zuckergelatinekulturen einverleibt, die Meerschweinchen in Mengen bis zu einer ganzen Kultur (der dichte Bodensatz in 3 ccm Peptonwasser aufgeschwemmt), die weißen Mäuse in Mengen von 1,5–2 ccm.

Keines der Tiere zeigte irgend welche Reaktion.

### Fall IV.

Der 21-jährige Fleischhauer J. P. wurde am 19. Febr. 1904 auf die Ohrenklinik (Prof. Politzer) aufgenommen. Er gab an, daß ungefähr 8 Tage vorher Schwindel und Taumeln aufgetreten, aber bald wieder zurückgegangen wären; vor 2 Jahren hätte das linke Ohr, ohne früher je Veränderungen gezeigt zu haben, plötzlich zu „fließen“ angefangen; dieser Ohrenfluß hätte ungefähr 5 Monate lang gedauert, dann aufgehört und einige Monate später von neuem begonnen.

Die Untersuchung ergab bei der Aufnahme Einziehung und Trübung des Trommelfelles des rechten Ohres, Verdickung und Perforation des Trommelfelles des linken Ohres.

Am 20. März begann Patient zu fiebern, am 24. März stieg die Temperatur plötzlich auf 40° C, es stellten sich Kopfschmerzen und am 26. März Sopor ein. An diesem Tage wurde die Radikaloperation gemacht (Dr. Alexander), wobei sich der Warzenfortsatz mit Cholesteatommassen gefüllt zeigte, und da der Verdacht auf einen Gehirnbruch bestand, in der mittleren Schädelgrube die Dura mater eröffnet und das Gehirn punktiert. Anschließend daran wurde die Lumbalpunktion vorgenommen, wobei sich trübe Flüssigkeit entleerte. Die Untersuchung dieser ergab zwar polymukleäre Leukocyten, aber keine Bakterien.

Da der soporöse Zustand auch in den nächsten Tagen noch anhielt, wurde am 28. März 1904 eine zweite Punktion des Gehirns ausgeführt. Gleich darauf stellten sich epileptiforme Krampfanfälle ein, denen der Patient noch am gleichen Tage um ungefähr 4 Uhr nachmittags erlag.

Obduktion (Dr. A. Ghon), 18 Stunden post mortem.

Anatomische Diagnose: Fibrinös-eiterige Leptomeningitis der linken Konvexität, serös-eiterige der rechten. Blutung in die inneren Hirnhäute an der Basis und den seitlichen Anteilen beider Konvexitätsflächen. Akuter innerer Hydrocephalus. Defekt der Dura mater in der linken mittleren Schädelgrube nach Trepanation des linken Tegmen wegen Cholesteatom und eiteriger Otitis media (26. März).

Hyperämie der inneren Organe. Bindegewebige Adhäsion der rechten Lunge im Bereiche des Unterlappens. Trübe Schwellung der parenchymatösen Organe.

Die Dura mater gespannt, nicht verdickt. Im oberen Sichelblutleiter flüssiges dunkles Blut. Innenfläche der Dura mater glatt und glänzend.

Die inneren Hirnhäute der rechten Konvexität getrübt und feucht, nach unten zu von isoliert stehenden und konfluierenden Blutungsherden durchsetzt. Ähnlich verändert sind auch die seitlichen Anteile der linken Konvexität, während diese gegen die

Mantelkante zu in ihren inneren Hirnhäuten von einer mächtigen Schicht starren, grünlich-gelben, fibrinös-eiterigen Exsudats durchsetzt erscheint. Gleiches Exsudat findet sich auch an der medialen Fläche der linken Großhirnhemisphäre. An der Basis sind die inneren Hirnhäute im Bereiche der Sylvischen Furchen und der angrenzenden Parteen des Stirn- und Schläfenlappens von Blutungen durchsetzt, an der linken Seite außerdem noch strich- und fleckweise von fibrinös-eiterigen, grau-grünlichen Exsudatmassen. Am Chiasma, an der Brücke und Medulla finden sich dunkelrote Blutmassen in reichlicher Menge in und auf den inneren Hirnhäuten, an der unteren Fläche beider Kleinhirnhemisphären und zwischen den Hirnhäuten.

Die Hirnrinde ist rötlich-grau, das Marklager feucht. In den Seitenventrikeln findet man in mäßiger Menge trübe, rötliche Flüssigkeit.

### Bakteriologischer Befund vom Gehirnexsudat.

Deckglaspräparate zeigten in reichlicher Menge kleinste Bacillen im allgemeinen von der Größe des Influenzabacillus mit abgerundeten Enden. Die Länge des Bacillus war eine verschiedene, doch fanden sich vorherrschend kurze Formen, etwa doppelt so lang als breit, manchmal ganz kokkenähnlich. Die Bacillen waren durchwegs gramnegativ. Sie hatten die Gegenfarbe im allgemeinen schwach angenommen und lagen, ohne bestimmte Anordnung zueinander, extracellulär, vielfach aber auch in den Zellen (Taf. II, Fig. 17). Man fand häufig Zellen, deren Protoplasma von den Bacillen vollgepfropft war. Dadurch, sowie durch den Umstand, daß viele der Bacillen ausgesprochen bipolar gefärbt erschienen, wurde die Aehnlichkeit der Deckglasbilder mit denen bei akuten Influenzaserkrankungen eine außerordentlich große.

Andere Bakterien ließen sich nicht nachweisen.

Kulturen vom Ventrikelinhalt und dem Exsudat von der linken Konvexität:

- 1) Plattenstrichkulturen auf Agar: steril.
- 2) Plattenstrichkulturen auf Blutagar: steril.
- 3) Plattenstrichkulturen auf Blutagar mit gleichzeitiger Staphylokokkenaussaat: steril.
- 4) Zuckeragar in hoher Schicht (anaërob): Reichliches Wachstum einer Art von kleinen Kolonien.

Das Ergebnis der Kulturen vom Ventrikelinhalt war ein völlig identisches mit dem vom Exsudat der linken Konvexität.

Die Untersuchung der Zuckeragarkulturen ergab, daß die angegangenen Kolonien eine Reinkultur eines Bacillus darstellten, der morphologisch jenem in den Deckglaspräparaten vom Exsudate entsprach und daß dieser Bacillus den streng anaëroben Bakterien zugehörte.

### Histologisch-bakteriologischer Befund des Gehirns.

Die inneren Hirnhäute stark verbreitert, der Subarachnoidalraum mächtig erweitert und dicht erfüllt von zahlreichen, fast ausschließlich polynukleären Leukocyten. Die Eiterzellen sind stellenweise sehr dicht, stellenweise weniger dicht gehäuft und zeigen nicht selten Zerfallserscheinungen. Die Maschenräume der Arachnoidea erfüllt von mehrkernigen Leukocyten, in denen der Pia neben Eiterkörperchen feingekörnte eosin hellrote Massen und außerdem stellenweise ein Netzwerk feinsten oder auch manchmal gröberer Fasern, die in den nach Weigert tingierten Schnitten violett gefärbt erscheinen. Auch innerhalb dieser fibrinösen Exsudatmassen sieht man Eiterkörperchen. Am ausgebreitetsten sind die Fibrinnetze in der Umgebung der Blutgefäße, die durchwegs mit Blut vollgefüllt sind.

Das Gehirn selbst zeigt histologisch keine Veränderungen.

In Schnitten, die mit Boraxmethylenblau gefärbt sind, findet man in reichlichster Menge kleinste Bacillen (Taf. II, Fig. 19), morphologisch durchaus den in den Deckglaspräparaten gesehenen gleich. Sie liegen vorwiegend zwischen den Eiterzellen, aber in ungleichmäßiger Verteilung. An einzelnen Stellen sieht man im Subarachnoidalraum ganze Rasen von Bacillen, die schon bei schwacher Vergrößerung als wolkenartige blaue Massen kenntlich sind. Man findet die Bacillen aber auch in den Eiterzellen.

Die Bacillen erscheinen nicht immer gleichmäßig tingiert, lassen aber erkennen, daß sie einer Art angehören.

In den Blutgefäßen findet man die Bacillen nicht.

In Schnitten, die nach der Methode von Gram-Weigert gefärbt wurden, sind die Bacillen nicht sichtbar.

Andere Bakterien konnten auch in den Schnitten nicht gefunden werden. Der isolierte Bacillus hatte folgende Eigenschaften:

### Morphologisches Verhalten.

Der Bacillus hatte das gleiche Aussehen wie das im Falle I beschriebene Stäbchen.

In den Deckglaspräparaten vom Gehirnexsudate glich der Bacillus in seinem Aussehen dem Influenzabacillus (Taf. II, Fig. 17): Kleine und kleinste Stäbchen mit Größendifferenzen innerhalb gewisser Grenzen, zum Teil bipolar gefärbt und vielfach in den Zellen liegend. Durchschnittlich betrug die Länge der Bacillen 1,20—1,50, seltener war sie größer, häufiger kleiner, so daß viele der Formen ein kokkenartiges Aussehen zeigten. Fäden fanden sich in den Präparaten des Gehirnexsudates nicht vor.

Das gleiche Aussehen zeigte der Bacillus auch in den Gewebsschnitten (Taf. II, Fig. 19), die in absolutem Alkohol, sowie in einem Gemisch von Müllerscher Lösung und Formol fixiert waren.

Diese kurze Form ließ der Bacillus auch in den Kulturen erkennen und zwar vorwiegend in jungen Kulturen und in Kulturen, die in erstarrter Hydrokelen- oder Ascitesflüssigkeit gemacht worden waren. In diesen Nährböden erhielt sich die kurze, vielfach kokkenähnliche Form auch längere Zeit, während in den anderen Nährböden die Formen im allgemeinen bald größer wurden.

24-stündige Zuckeragarkulturen zeigten bei entsprechender Darstellung die kleinen Formen als kurzovale Gebilde oder typische kurze Stäbchen. Schon in 48-stündigen Kulturen änderte sich das Bild dahin, daß neben diesen kleinen Formen etwas größere, wie gebläht aussehende auftraten, die sich dann auch schwach färbten.

Manchmal blieb es bei diesen Formen, manchmal aber konnte man früher oder später noch andere Formen in Präparaten aus den Kulturen finden, so daß ein pleomorphes Bild entstand (Taf. II, Fig. 20): Man sah größere runde Gebilde, oft kaum erkennbar oder deutlich ringförmig, birn- und keulenförmige Gebilde, sowie kürzere und längere Fäden, teils gerade, teils gebogen oder verschlungen. Alle diese Formen machten den Eindruck, als ob sie aufgebläht wären. Daneben sah man dann in älteren Kulturen noch dünne, meist schlecht tingierte Formen verschiedener Größe und schattenähnliche Gebilde.

Das Alter der Kultur war für das Zustandekommen dieser Formen insofern maßgebend, als im allgemeinen mit dem Alter die geblähten, schlecht tingierten Formen zunahmen.

Die Fadenbildung ging damit aber nicht immer parallel.

Die Art des Nährbodens war manchmal für die Formenbildung maßgebend. So fanden sich kurze, kokkenähnliche Formen, die sich der in den Ausstrichpräparaten vom Gehirnsexudate gesehenen Form am meisten näherten, in den Serumkulturen. In einer Rohrzuckeragarkultur sahen wir einmal ein besonders pleomorphes Bild, sehr reich an den oben beschriebenen verschiedenen Formen, während in einer gleich-alterigen Traubenzuckeragarkultur nur durchwegs rundliche geblähte Formen zu sehen waren (Taf. II, Fig. 18).

Die Reaktion des Nährbodens beeinflusste das morphologische Verhalten des Bacillus scheinbar insofern, als in einer Versuchsreihe mit der Zunahme der Alkaleszenz das Auftreten von Fäden parallel ging.

Dagegen schien es gleichgültig, ob die Kulturen bei höheren (37°) oder niederen (21° und 5° C) Temperaturen aufbewahrt wurden: Man konnte sowohl hier wie dort Fadenbildung und Formverschiedenheiten bemerken.

Wie bei dem im Falle I beschriebenen Bacillus, konnten auch hier noch in sehr alten Kulturen im allgemeinen wohlerhaltene Formen aufgefunden werden.

Die Färbung des Bacillus war im großen und ganzen keine sehr intensive. Er färbte sich mit den gebräuchlichen Farbstoffen ziemlich schwach, wenn die Färbung nicht etwa durch Erhitzen oder sehr langes Einwirken gesteigert wurde. Sehr häufig war die Färbung eine ausgesprochen bipolare, besonders in jungen, 24-stündigen Kulturen. Manchmal sah man sie auch in älteren Kulturen. Am deutlichsten kam sie zur Geltung, wenn Präparate aus jungen Kulturen in absolutem Alkohol fixiert und mit verdünnter Boraxmethylenblaulösung gefärbt wurden. Die größeren, wie gebläht aussehenden Formen tingierten sich durchaus schwach, die rundlichen manchmal typisch ringförmig. Durch dieses Färbeverhalten entstanden Formen, die — wenn sie klein waren — zum Teil dem Influenzabacillus glichen, wenn sie größer waren, aber an den Pestbacillus erinnerten. Das färberische Verhalten glich also völlig dem im ersten Falle beschriebenen Bacillus.

Bei Anwendung der Methode von Gram entfärbte sich der Bacillus gleichmäßig und rasch.

In Lugolscher Lösung und in Jodgummilösung kamen die Formen des Stäbchens immer sehr scharf zum Ausdruck, zeigten aber niemals Braun- oder Blaufärbung. Besonders deutlich sah man bei dieser Darstellungsmethode die Ringformen.

Kapseln konnten niemals erhalten werden.

Der Bacillus bildete keine Sporen und war unbeweglich. Geißeln konnten nach der Methode von Loeffler nicht dargestellt werden.

In ungefärbten Präparaten ließ der Bacillus keine besonderen Strukturverhältnisse erkennen, sondern erschien gleichmäßig hell.

(Fortsetzung folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Ueber „Typhusbacillenträger“ und ihr Vorkommen unter gesunden Menschen.

[Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie der Universität  
Straßburg i. E.]

Von Dr. **Spartaco Minelli**, Prosektor am Ospedale Maggiore in Bergamo.

Übersetzt von Dr. Kurt Tautz-Berlin.]

Seit der systematischen Typhusbekämpfung im Sinne Robert Kochs steht im Vordergrund des epidemiologischen Interesse die Frage von den „Bacillenträgern“. Man versteht darunter bekanntlich gesunde Personen, welche die Typhuskeime in ihrem Innern kultivieren und regelmäßig oder schubweise nach außen zur Entleerung bringen. Man wußte, wie auch bei anderen Infektionskrankheiten, schon früher, daß vereinzelt Typhusbazillen lange in die Rekonvaleszenz herein noch mit dem Stuhle ausgeschieden würden. Ein häufigeres Vorkommen solcher Verhältnisse, zumal auch bei völlig Genesenen, vermutete im Anschluß an gewisse epidemiologische Eigentümlichkeiten des Typhus Frosch<sup>1)</sup>, unterstützt von vereinzelt Befunden v. Drigalskis<sup>2)</sup> und Dönitzs<sup>3)</sup>.

In ungeahnter Weise haben sich diese Vermutungen bei den Arbeiten zur „Typhusbekämpfung im Südwesten des Reiches“ bestätigt. Insbesondere reichlich war die Ausbeute der Untersuchungen, welche Lentz<sup>4)</sup> (Idar) anstellte und zusammen mit den Erfahrungen der übrigen Typhusanstalten, die ihm zu diesem Zwecke zur Verfügung standen, publizierte, sowie die vielfachen und verschiedenartigen, sowohl wissenschaftlich als hygienisch-sanitär bedeutungsvollen Befunde der Typhusanstalt am hygienischen Institut zu Straßburg [Prof. J. Forster und E. Levy<sup>5)</sup>]. Gerade in Straßburg ist mit großem Nachdruck die Suche nach Bacillenträgern unter Gesunden im Gange.

Aus diesen Arbeiten geht hervor, daß nicht nur Typhusrekonvaleszenten oder -Geheilte, sondern auch scheinbar dauernd ganz Gesunde aus der Umgehung von Typhen kürzere oder längere Zeit hindurch mit ihren Faeces Typhuskeime austreuen können. Auch ist zu ersehen, daß die „Bacillenträger“ gefährlich für ihre Umgebung werden können.

Man hat sich zumeist damit beschäftigt, in der Umgebung von Typhus nach Bacillenträgern zu fahnden. Es war nun aber wünschenswert, außerdem Menschengruppen zu untersuchen, welche erfahrungsgemäß abgetrennt von Typhusvorkommnissen isoliert

1) Frosch, Festschrift R. Koch. 1903.

2) v. Drigalski, Centralbl. für Bakt. Bd. XXXVI. 1904.

3) Dönitz, Festschrift R. Koch. 1903.

4) Lentz, Ueber chron. Bacillenträger. (Klin. Jahrb. Bd. XIV. p. 37).

5) Klinger, P., Ueber Typhusbacillenträger. (Arbeiten a. d. Kais. Ges.-Amt. Bd. XXIV. Heft 1. p. 91.) — Weiterhin: J. Forster und H. Kayser. (München. Med. Wochenschr. 1905. No. 31). Galle und Bacillenträger. H. Kayser, Arbeiten aus d. kais. Ges.-Amt. Bd. XXIV. Heft. 1. p. 173. Milch und Typhusbacillenträger, sowie p. 176. Ueber die Gefährlichkeit der Bacillenträger. Ferner A. Brion und H. Kayser, Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. LXXXV. No. 28. p. 538 ff. spez. und 551. Vergl. ferner Konferenzberichte der Leiterkonferenzen (Typhusanstalten) 1904 (Saarbrücken, Straßburg). 1905 (Speyer).

leben, um nachzusehen, ob sich „Bacillenträger“ auch an solchen Orten finden. Ein derartiger seit Jahren typhusfreier Ort ist das Bezirksgefängnis in Straßburg. Auf den Wunsch und unter der Leitung der Herren Professoren J. Forster und E. Levy bin ich deshalb an eine bakteriologische Durchuntersuchung der Stühle aller Gefangenen dieser Anstalt gegangen. Das Material stellte mir in lebenswürdiger Weise die Gefängnisverwaltung, auch unterstützte mich dabei in freundlicher Weise Herr Sanitätsrat Dr. Metzentin, Arzt am Gefängnis. Ich wandte immer die Anreicherung auf Malachitgrün-Agar [Löffler, Lentz, Klinger<sup>1)</sup>] an, zusammen mit dem Ausstreichen auf Endo-Boden.

Die Zahl der auf diese Weise untersuchten Individuen betrug 250. Unter ihnen fand ich einen Bacillenträger in der Person eines St., der seit etwa 8 Wochen im Gefängnis und in Zelle No. 1 untergebracht war. Aus seinen Faeces, welche durchaus normales Aussehen boten, konnte ich einen Bacillus isolieren, der als *Bact. typhi* Ebert-Gaffky identifiziert wurde. Seine Kultureigenschaften waren die bekannten. — Die Agglutinierbarkeit prüfte ich mit dem Serum eines gegen Typhus immunisierten Kaninchens; es beeinflusste die aus dem Stuhle des St. isolierten Keime, ebenso wie Typhusbacillen, in der Verdünnung 1:15000. Injizierte ich einem Meerschweinchen von 250 g 1 Normalöse 20-stündigen Agarrasen (= 2 mg) intraperitoneal, so wurde das Tier schwer krank, genas aber wieder vollkommen.

Aus dem Urin des St. konnte ich trotz wiederholter Untersuchungen das *Bact. typhi* nicht züchten. Der Harn war klar, enthielt kein Albumen.

Das Blutserum des Bacillenträgers agglutinierte die aus dem Stuhle stammenden Bacillen in der Verdünnung 1:1000 (!), gut agglutinable Typhusbacillen des Laboratoriums 1:500 (über die Beurteilung des Befundes s. unten). Negativ waren die Agglutinationsversuche, mit *Bact. paratyphi* A (Brion und Kayser), sowie B [Schottmüller<sup>2)</sup>].

Die Faecesuntersuchungen bei diesem Gefangenen wurden in systematischer Weise 20 Tage lang fortgesetzt; es fanden sich dabei immer Typhusbacillen in solcher Menge, daß ihr Nachweis schon mit der einfachen Endo-Platte gelang, ohne daß man erst vorher eine Malachitgrünanreicherung vornehmen mußte.

St. versicherte übrigens bei der Befragung, noch nicht einen einzigen Tag krank gewesen zu sein. Er ist 37 Jahre alt, hat meistens ein Vagabundenleben geführt und schon einige Strafen verbüßt. Auch konnte Herr Dr. H. Kayser, welcher als Mitglied der hiesigen Typhusabteilung bei Typhusvorkommnissen in Straßburg die Ermittlungen vornimmt und auch in diesem Falle den Gefangenen aufsuchte, nicht nachweisen, daß St. einmal in der Nähe von Typhuskranken gelebt hat. Bei dem vagabundierenden Vorleben unseres Bacillenträgers ist aber seinen Aussagen natürlich nur beschränkter Wert beizulegen.

Unter den alten Insassen des Gefängnisses, in dem seit über 3 Jahren kein Typhus vorkam, vermochte ich keinen Bacillenträger zu finden.

Aus diesen Untersuchungen an Personen, die vollkommen isoliert

1) Vergl. P. Klinger, Arbeiten a. d. kais. Ges.-Amt. Bd. XXIV. Heft 1. Ueber neuere Methoden etc. Dasselbst Literatur.

2) S. Münchener med. Wochenschr. 1902. No. 15. p. 613 und Centralbl. f. Bakt. und Paras. Abt. I. Bd. XL. p. 285. Dasselbst Literatur.



von der Gesellschaft leben, geht hervor, daß ich aus ihren Faeces den Typhusbacillus in einem Verhältnis von 0,4 Proz. kultivieren konnte, also fast derselben Prozentzahl, in der man ihn bei Gesunden zu finden pflegt, die in der Umgebung von Typhuskranken leben. Man kann ferner aus dem Befund erkennen, welchen Gefahren solche Anstalten durch Bacillenträgervorkommnisse ausgesetzt sind. Erschien doch der St. subjektiv und objektiv zur Zeit meiner Untersuchungen als vollkommen gesund.

Eine Frage drängt sich nun auf, und zwar, ob trotz der oben mitgeteilten Angaben des Mannes der von mir gefundene Bacillenträger nicht früher doch an Typhus erkrankt gewesen ist. Erhebliche Krankheiten scheint St. nicht durchgemacht zu haben. Bei der bakteriologischen Untersuchung haben wir jedoch eine wichtige Tatsache festgestellt, daß nämlich das Blut des Gefangenen, sowohl die eignen als auch Laboratoriumstyphusbacillen in beträchtlich hohem Maße agglutiniert. Dieser Umstand spricht nach Forster und Kayser<sup>1)</sup> dafür, daß der untersuchte Mann früher wohl einen leichten Typhus gehabt hat, denn das Serum von Personen, die im Darne Typhusbacillen als Saprophyten beherbergen, ohne je an Typhus erkrankt gewesen zu sein, hat nach ihnen im allgemeinen keine agglutinierenden Eigenschaften. Das Agglutinationsphänomen zeigt mit großer Wahrscheinlichkeit an, daß wir einen sogenannten „chronischen Bacillenträger“ vor uns haben [Kayser]<sup>2)</sup>.

Diese Beobachtungen, daß vollkommen normale Individuen Typhusbacillen beherbergen und ihr Blut ein beträchtliches Agglutinationsvermögen besitzt, wird vielleicht dazu beitragen, die manchmal beobachtete Tatsache, daß das Blut an verschiedenen Krankheiten Leidender Typhusbacillen agglutiniert, etwas aufzuklären. Ich möchte hier nur an die positiven Befunde von Agglutination erinnern, die man bei Individuen mit Krankheiten der Gallenwege gemacht hat, und ferner an die wichtige Rolle, die bei diesen Affektionen der Typhusbacillus spielen kann<sup>3)</sup>.

Gesetzt den Fall, daß das von uns als Bacillenträger erkannte Individuum einen ambulatorischen leichten Typhus durchgemacht hat, welcher Teil stellt den Vegetationsort der Typhusbacillen dar? Nach den Erwägungen, welche Herr Professor J. Forster in der Leiterkonferenz der Typhusanstalten in Straßburg 1904 vortrug und nach den Untersuchungen von Forster und Kayser<sup>4)</sup>, sowie etwas später Dörr<sup>5)</sup>, kommt hier wohl meist die Gallenblase in Betracht. Forster und Kayser fanden bei 8 Typhusleichen in der Gallenblase und den oberen Teilen des Jejunum Typhusbacillen, während sie in den tieferen Teilen des Dünndarmes nur sehr spärlich vorhanden waren und im Dickdarme fast ganz fehlten. Außerdem wiesen sie Typhusbacillen in der Galle bei zwei Personen nach, die an Gallensteinen litten, aber niemals einen Abdominaltyphus durchgemacht haben wollen. Brachten sie ferner beim

1) a. a. O. Münch. med. Wochenschr. 1905.

2) Arbeiten a. d. kaiserl. Ges.-Amt. Bd. XXIV. p. 176, 177, 178, 179.

3) Blumenthal, Franz: Ueber das Vorkommen von Typhus- und Paratyphusbacillen bei Erkrankungen der Gallenwege. (Münch. med. Wochenschr. 1904. No. 37 und Med. Klinik. 1905.)

4) Forster und Kayser, loc. cit. — Ferner Arbeiten a. d. Kais. Ges.-Amt. Bd. XXIV. p. 177, 178, 179 und 180.

5) Dörr, Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXIX. p. 624.

Kaninchen Typhusbacillen in den Blutstrom, so konnten sie diese in der Gallenblase noch zu einer Zeit finden, als es schon nicht mehr möglich war, sie im Urin, in den Faeces und im zirkulierenden Blute nachzuweisen. Die Schleimhaut der Gallenblase enthielt einmal noch Typhusbacillen, als diese aus der freien Galle selbst schon nicht mehr züchtbar waren. Hieraus schließen Forster und Kayser, daß auch beim Menschen die Typhusbacillen durch das Blut und die Leber in die Galle gelangen und mit wenigen Ausnahmen sehr wahrscheinlich die Gallenblase der bevorzugte Aufenthalts- und Vegetationsort für die Typhus- sowie Paratyphusbacillen darstellt. Kayser berichtet von einer Frau, welche ein halbes Jahr nach dem völligen Ablauf eines bakteriologisch kontrollierten, klinisch behandelten Typhus durch Selbstmord starb (Sublimatinnahme bei beginnender Psychose). Hier enthielt die Galle noch Typhusbacillen in Reinkultur<sup>1)</sup>. Zu einer Steinbildung war es in dieser Gallenblase noch nicht gekommen. — Lentz<sup>2)</sup> nannte ebenfalls (1905) die Gallenblase unter anderem als in Betracht kommenden Dauersitz, glaubte aber mit anderen Autoren, daß auch andere Teile des Darmkanales, wie z. B. der Wurmfortsatz und Divertikel Stellen des Residuums sein könnten.

Straßburg, den 13. Dezember 1905.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber die Arteinheit der Streptokokken.

[Aus dem bakteriologischen Institut des Dr. Ph. Blumenthal in Moskau.]  
Vorläufige Mitteilung.

Von Dr. Silberstrom in Lodz.

Bereits seit dem ersten Beginn des Aufschwungs der bakteriologischen Systematik beschäftigten sich zahlreiche Forscher mit der Frage, ob die in den verschiedensten Krankheitsherden zu findenden Streptokokken eine und dieselbe Bakterienart repräsentieren, bei welcher die Mannigfaltigkeit in der Wirkungsweise durch die histologischen Eigentümlichkeiten des Gewebes und das Maß der Widerstandskraft des Organismus bedingt ist, oder ob ungeachtet der fast identischen morphologischen Eigenschaften die Streptokokken sich durch die Spezifität ihrer Einwirkung auf den Organismus voneinander unterscheiden und demgemäß in verschiedene Arten zergliedert werden müssen. Bekannt ist die Einteilung derselben in den *Streptococcus longus* und *Str. brevis*. Zu Gunsten der ersteren Anschauung, d. h. der Arteinheit der Streptokokken, sind zahlreiche Autoren, insbesondere Petruschky, eingetreten, welche darauf hinweisen, daß bei einem und demselben Kranken derselbe *Streptococcus* bald ein Erysipel, bald eine Phlegmone, bald Sepsis hervorzurufen vermag. Ebenso zeigen die mit Streptokokken verschiedener Herkunft vorgenommenen Tierversuche, daß dieser oder jener beim Versuchstier hervorgerufene Krankheitsprozeß nur durch die Virulenz des *Streptococcus* und die Art seiner Applikationsweise bedingt ist. Andererseits haben mehrfache Beobachtungen der letzten Zeit, ins-

1) Arbeiten a. d. Kaiserl. Ges.-Amt a. a. O.

2) Lentz a. a. O.

besondere die bei der Immunisierung von Tieren konstatierten Ergebnisse, die Anschauungen über die Arteinheit der Streptokokken von neuem ins Wanken gebracht. Einen neuen Versuch, die Frage nach der Artunterscheidung der für den Menschen pathogenen Streptokokken der Lösung näher zu bringen, stellt die Arbeit von H. Schottmüller (Münch. med. Wochenschr. 1903. No. 20 u. 21) dar. Als Ausgangspunkt für die Differenzierung der Streptokokkenarten dienten dem Autor ihr verschiedenes Verhalten zum Blutagar. Indem er auf einem Gemisch von Agar und Menschenblut Streptokokken aus den verschiedensten Krankheitsherden resp. Krankheitsformen züchtete, kam er zu dem Schlusse, daß drei Streptokokkenarten zu unterscheiden sind:

1) *Str. pyogenes* s. *erysipelatos*, charakterisiert durch hämolytische Fähigkeit, welche darin besteht, daß um die Kolonien dieser Art sich eine helle Zone von entfärbtem Blut des Nährbodens bildet;

2) *Str. mitior* s. *viridans*, bildet auf Blutagar Kolonien in Form von grauen bis dunkelgrünen Punkten, wobei Erscheinungen von Hämolyse fast gar nicht zur Beobachtung kommen. Diese Art zeichnet sich durch schwache Pathogenität für Tiere aus, was die ihr vom Autor beigelegte Bezeichnung „mitior“ rechtfertigt.

3) *Str. mucosus*, bildet auf Agar einen schleimigen, fadenziehenden Belag, während unter dem Mikroskope Schleimkapseln wahrgenommen werden. Auf Blutagar wächst eine graugrüne Schicht aus, welche in der Folge eintrocknet und sich abflacht. Zeichnet sich durch hohe Tierpathogenität aus.

Diese drei Arten gehen unter keinen Umständen ineinander über; man mag sie noch so vielmals von einem Nährboden auf den anderen überimpfen, so bewahren sie dennoch unverändert ihr oben bezeichnetes Verhalten zum Blutagar, sowie zur Blutbouillon, in welcher der *Str. erysipelatos* eine Hämolyse hervorruft, die übrigen beiden Arten hingegen nicht. Diese Beobachtungen fanden eine Bestätigung durch Eugen Fränkel (Ueber menschenpathogene Streptokokken, Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 12 u. No. 39), welcher den *Str. viridans* vornehmlich bei den sich in die Länge ziehenden Formen von Endocarditis fand, den *Str. mucosus* dagegen bei der lobären Pneumonie, die ebenso häufig durch diese Streptokokkenart wie durch den *Pneumococcus* hervorgerufen werden soll. Behufs Differenzierung des *Str. viridans* von dem *Pneumococcus*, mit welchem er bei äußerlicher Betrachtung leicht verwechselt werden kann, empfiehlt Fränkel die Züchtung auf Lakmus-Nutrose-Agar, auf dem der *Pneumococcus* äußerst spärlich wächst, der *Str. viridans* im Gegenteil sehr üppig, wobei er überdies den Nährboden intensiv rot färbt. Das wären in kurzen Zügen die von den genannten Forschern erzielten Ergebnisse, soweit sie die Artverschiedenheit der Streptokokken betreffen.

Auf Veranlassung des Herrn Dr. Joseph Bronstein, Leiters der bakteriologischen Abteilung am Blumenthalschen Institute in Moskau, setzte ich mir zum Ziel, aus den im Institut vorhandenen Streptokokkenkulturen, welche aus verschiedenen Quellen resp. Krankheitsformen gewonnen waren, die oben beschriebenen Streptokokkenarten zu züchten. hernach mit jeder einzelnen Art Immunisierungsversuche auszuführen und mit dem Blutserum der immunisierten Tiere Agglutinationsversuche sowohl mit den Kulturen der gleichnamigen Art wie mit denen der übrigen Arten anzustellen. Es war vorauszusehen, daß es auf dem Wege der Agglutination am sichersten gelingen dürfte, die Entscheidung der

Frage herbeizuführen, ob die bezeichneten Streptokokkenarten in der Tat scharf umgrenzte Typen darstellen, von denen jeder durch ein besonders spezifisches Verhalten zum Tierkörper charakterisiert ist, oder ob im Gegenteil in der Verschiedenheit der Reaktion dieser Arten auf den Blutagar bloß eine zufällige, nicht für ihre Individualität unzweideutig sprechende Erscheinung zu erblicken ist. Sollte es sich herausstellen, daß das Blut des gegen die eine Art immunisierten Tieres nur die Kulturen eben dieser Art agglutiniert, die der übrigen Arten hingegen nicht, so würde das für die oben beschriebene Klassifikation eine glänzende Bestätigung bedeuten, was unfehlbar auf die zur Zeit geübte Methode der Herstellung von polyvalenten Antistreptokokkenserum einen einschneidenden Einfluß gehabt hätte.

Versuche, die Schottmüllerschen Arten zu züchten, wurden von mir an 14 Laboratoriumskulturen und an einer Kultur, welche von mir selbst aus dem Herzblute eines an Scharlach verstorbenen Kindes gewonnen war, vorgenommen. Zur Herstellung des Blutagars nahm ich nicht, wie es Schottmüller tat, Menschenblut, sondern Pferde- und Kaninchenblut, mit Ausnahme eines einzigen Falles, in welchem ich Menschenblut benutzte. Sämtliche Ueberimpfungen wurden gleichzeitig auf Pferde- und auf Kaninchenblut ausgeführt, um das Verhalten der Streptokokken zu dem Blute dieses oder jenes Ursprungs klarzulegen. Außerdem wurden in beiden Fällen sowohl Stich- als auch Ausstrichkulturen angelegt. Sodann erwies es sich als angebracht, Impfungen von verschiedener Dichte zu machen. Die Menge des dem Agar beigemengten Blutes wurde nach der Farbe des Gemisches — bis zur Erzielung einer intensiv blutroten Färbung — bestimmt.

Die Ergebnisse der Impfungen waren folgende: 10 Kulturen wiesen hämolyisierende Eigenschaften auf, und zwar die Kulturen mit der Bezeichnung: *Scarlatina S<sup>4</sup>*, *Scarlatina S<sup>6</sup>*, *Abscessus cerebri*, *Septicaemia*, *M. septicaemia*, *Pyonephritis*, *Angina L.*, *Phlegmone*, *Scarlatina K.*, *Strept. intestinorum No. 3*. 2 Kulturen, und zwar *Rheumatismus S.* (gewonnen aus einer Begleitangina bei Gelenkrheumatismus) und *Febris puerperalis*, wiesen Erscheinungen auf, die mit denjenigen identisch waren, welche Schottmüller der Gruppe des *Str. viridans* zuschreibt. Bei 3 Kulturen waren die Resultate unbestimmt. Vom Typus des *Str. mucosus* war unter den untersuchten Kulturen keine einzige vorhanden.

Im ganzen wurden 78 Impfungen vorgenommen. Bei diesen Versuchen gelang es zu konstatieren, daß der *Str. erysipelatos* in ebendenselben Maße auf das Pferde- wie auf das Kaninchenblut hämolytisch einwirkt und daß die Erscheinungen der Hämolyse im Blutagar um so stärker auftreten, je mehr Blut dem Agar beigemischt ist; ferner, daß die hämolytischen Vorgänge in den tiefen Kolonien deutlicher zu Tage treten, als in den oberflächlichen und daß der Zusatz von Glycerin zum Agar den Grad der Hämolyse nicht beeinflußt. Sehr charakteristisch ist die Einwirkung der Hämolyse auf die Blutbouillon, unabhängig davon, ob sie Pferde- oder Kaninchenblut enthält. Stellt man das Bouillonblutgemisch in den Brutschrank, so wird über Nacht das dickliche und vom Blute trübe Gemisch am nächsten Tage vollkommen durchsichtig und nimmt eine dunkelrote Färbung an. Die Durchsichtigkeit des Gemisches zeugt von der völligen Auflösung des Hämoglobins. Am Boden des Reagenzröhrchens sammeln sich unbedeutende Flocken, bestehend aus der niedergesunkenen Kultur und den Resten der roten Blutkörper-

chen. Ein ganz anderes Bild bietet in der Blutbouillon die nicht hämolyzierende Art dar. Das Blut senkt sich unverändert nach dem unteren Teile des Reagenzröhrchens und bildet hier eine dicke undurchsichtige Blutschicht. Ueber derselben befindet sich eine durchsichtige Schicht von Bouillon. Angesichts dieser Ergebnisse genügt es, zur Entscheidung der Frage, ob der betreffende *Streptococcus* zur Art des *Str. erysipelatos* gehört oder nicht, eine Ueberimpfung auf Blutbouillon vorzunehmen, so daß man ohne Impfungen auf Blutagar auskommen kann.

Was den *Str. mitior* s. *viridans* betrifft, so bewirkt diese Art fast gar keine Hämolyse. Die hämolytische Zone auf dem Blutagar ist kaum wahrzunehmen oder fehlt gänzlich. Die Blutbouillon macht nicht die charakteristische Veränderung durch, welche wir oben beschrieben haben. Drei Mal wurden die Impfungen mit dieser Art wiederholt, aber das Resultat war stets das gleiche. Die anfangs ins Graue spielenden Kolonien nahmen beim Verweilen der Schalen im Brutschrank allmählich eine smaragdgrüne, in der Folge jedoch eine mehr dunkelgrüne Färbung an. Unter dem Mikroskope besitzen diese Streptokokken das Aussehen mehr oder minder langer Ketten oder sehen den Diplokokken ähnlich. Bouillonkulturen geben eine vollkommene Trübung im Gegensatz zum *Str. erysipelatos*, welcher bereits am anderen Tage nach der Impfung einen Bodensatz bildet. Am meisten charakteristisch jedoch ist für diese Art das Wachstum auf dem Nährboden von Conradi und Drigalski. Hier weist sie ein schnelles und üppiges Wachstum auf und färbt den Nährboden intensiv rot, während der *Str. erysipelatos* auf demselben Nährboden bei weitem spärlicher wächst und eine solche in die Augen fallende Farbenveränderung nicht bewirkt.

Ich gehe nun zur Darstellung meiner Tierversuche über. Eine vom Rheumatismus S. herstammende, in 150 ccm Zuckerbouillon gezüchtete, bei einer Temperatur von 68—70° im Laufe von 40 Minuten abgetötete und zentrifugierte Kultur des *Str. viridans* wurde am 18. Okt. 1905 2 Kaninchen — C und D — in die Ohrvene gespritzt. Hier kam zur Anwendung die Methode schneller Immunisierung kleiner Versuchstiere mit abgetöteten Bakterienleibern, welche Neufeld aus dem Kochschen Institute (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XLIV. 1903) angegeben hat. Beide Kaninchen erhielten vorsichtshalber bloß je 0,7 ccm der abgetöteten Kultur, d. h. nur einen Teil des Bodensatzes. Da diese Menge für die Immunisierung der Kaninchen sich als unzureichend erwies, so wurden am 27. Okt. von der gleichen abgetöteten (frischen) Kultur abermals je 2 ccm, d. h. je eine Hälfte des Bodensatzes, injiziert. Am 28. Okt. ging das Kaninchen C ein. Dem überlebenden Kaninchen D wurde am 6. Nov. aus der Vena saphena eine Blutprobe entnommen und auf ihre agglutinierenden Eigenschaften untersucht. Die Ergebnisse waren folgende:

1) Mit der Kultur des *Str. viridans* (Rheumatismus S), welche zur Immunisierung des Tieres gedient hatte, wurde eine positive Reaktion erzielt bei Verdünnungen bis zu 1:5000. Die makro- und mikroskopisch angestellte Reaktion wies ungefähr die gleichen Ergebnisse auf.

2) Mit den Kulturen S<sup>4</sup>, S<sup>6</sup>, Abscessus cerebri, M. septicaemia, Angina L. und Phlegmone kam eine Agglutination gar nicht zu stande.

3) Mit der anderen Kultur des *Str. viridans*, welche zur Immunisierung des Kaninchens nicht herangezogen war, trat eine Reaktion bloß in Verdünnungen bis zu 1:50 auf.

Gleichzeitig wurden andere Kaninchen mit einer Kultur des *Str.*

erysipelatos (Scarlatina S<sup>4</sup>) immunisiert. Am 14. Okt. wurde den Kaninchen A und B eine abgetötete Kultur von 150 ccm Zuckerbouillon, und zwar dem Kaninchen A 1,5 ccm, dem Kaninchen B hingegen 1 ccm des Bodensatzes injiziert. Am 27. Okt. wurde denselben Kaninchen je 0,001 lebendiger Kultur und ebensoviel dem Kontrolltiere E in die Ohrvene eingespritzt. Am 3. Nov. erhielten die Kaninchen A und B in die Peritonealhöhle je 0,01 lebendiger Kultur, das Kontrolltier dagegen 0,005. Am 7. Nov. wurden den Kaninchen A und B Blutproben entnommen und auf ihre agglutinierenden Eigenschaften geprüft. Das Serum A bewirkte mit der Kultur S<sup>4</sup> eine Agglutination bloß bis zu einer Verdünnung von 1:50, mit den übrigen Kulturen hingegen trat die Reaktion ganz und gar nicht auf. Das Serum B agglutinierte die zur Immunisierung benutzte Kultur S<sup>4</sup> bei einer Verdünnung bis zu 1:2000 schwach, bis 1:600 stark. Mit den übrigen Kulturen des Str. erysipelatos und mit den beiden Kulturen des Str. viridans war das Ergebnis der Reaktion ein negatives.

Um von den Kaninchen A und B ein stärker agglutinierendes Serum zu erhalten, wurde ihnen in die Bauchhöhle am 8. Nov. je 0,1 und am 14. Nov. je 0,4 und 0,8 ccm lebender Kultur injiziert. Der Versuch mißlang leider, denn das Kaninchen A ging am 15. Nov., das Kaninchen B am 18. Nov. zu Grunde. Das Kontrollkaninchen E, welches die gleichen Mengen: 0,1 und 0,4, bekommen hatte, blieb zwar am Leben, aber sein Serum hatte agglutinierende Eigenschaften nicht erworben. Demnach war uns die Möglichkeit benommen, noch weitere Kontrollversuche an sämtlichen Kulturen mit einem hochwertigen agglutinierenden Serum anzustellen. Aber die oben beschriebenen Ergebnisse der Versuche mit dem Serum B und noch mehr der mit dem Serum C, bei denen das eine wie das andere nur diejenigen Kulturen agglutinierte, mit welchen das Tier immunisiert worden war, die übrigen Kulturen der gleichnamigen Art jedoch nicht zu agglutinieren vermochte, versetzten unserer Annahme, daß die Agglutination bis zu einem gewissen Grade sich der Klassifikation von Schottmüller entsprechend verhalten werde, einen starken Stoß. Aus unabhängigen Gründen mußte ich leider meine Versuche zeitweilig unterbrechen. Es hätte noch bedurft eine größere Anzahl von Kulturen aller drei Arten zu züchten, einen höheren Immunisationsgrad zu erzielen und noch einmal eine ganze Reihe von Agglutinationsversuchen anzustellen. Einstweilen muß man sich bloß damit begnügen, daß auf den Weg hingewiesen ist, welcher behufs Lösung der Frage nach der Berechtigung der Schottmüllerschen Klassifikation zu betreten wäre. Diese Frage ist, ich wiederhole es, vom praktischen Gesichtspunkte aus ungemein wichtig, da uns durch ihre Entscheidung an die Hand gegeben wird, die Herstellung von Antistreptokokkenserum auf rationellen wissenschaftlichen Grundlagen zu basieren.

Zum Schlusse ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Dr. Ph. Blumenthal für die freundliche Ueberlassung des Materials und der Hilfsmittel seines Instituts, sowie Herrn Dr. J. Bronstein für die Anregung zu dieser Arbeit und für die stets lebenswürdige Unterstützung meinen besten Dank auszusprechen.

*Nachdruck verboten.*

## Beitrag zur Kenntnis des *Streptococcus mucosus capsulatus*.

[Aus dem pathologischen Laboratorium des Mt. Sinai-Hospitals,  
New York.]

Von Dr. Leo Buerger.

(Fortsetzung.)

Die ersten Generationen auf günstigen Nährböden, wie z. B. Serumagar<sup>1)</sup>, Glukose-Serumagar und Löfflersches koaguliertes Blutserum zeigen das eben geschilderte Bild. Mit Verfassers Färbemethode (1) läßt sich die Hülle stets nachweisen. Sie zeichnet sich aus durch ihre Größe, die Neigung zu diffuser Färbung, den zarten Bau, schleimige Beschaffenheit und die Abwesenheit von Einschnürungen zwischen den Paaren in der Kette.

Auf flüssigen Nährböden, z. B. Serumbouillon, ist die Kettenbildung sehr ausgesprochen. Zuweilen enthält eine 24-stündige Serumbouillonkultur eine Mehrzahl von Diplokokken. Doch überwiegen in der Regel kurze Ketten (6–10). Auch lange Ketten von 10–50 Gliedern sind nicht selten.

Auf einfachem Agar ist das Wachstum nicht so üppig. Man findet zwar die typische breite Kapsel, aber öfters kommen schmale, trockene, sogar membranöse Hüllen vor, wie man sie bei gewissen pyogenen Streptokokken sieht.

Die Serumsubstrate sind auch die besten, um gut ausgeprägte, eingekapselte Formen zu züchten, trockene, arme Nährböden zeitigen leicht Involutionsformen und schmale Hüllen.

Beobachtet man eine Anzahl Stämme durch successive Generationen auf Serumagar, so findet man, daß Diplokokken mit wohlentwickelten Hüllen durch einige Ueberimpfungen überwiegen können. Allmählich kommt die Neigung zur Kettenbildung zum Vorschein, und die Hülle kann schmaler oder sogar membranartig werden. Dies gilt besonders für gewisse Stämme. Andere wiederum behalten ihren ursprünglichen Charakter mit bemerkenswerter Zähigkeit. Meist konnte man gut eingekapselte Formen durch Ueberimpfung auf feuchte, günstige Nährsubstrate, wie Serumagar, noch monatelang nach der Isolierung hervorbringen.

Neben der Kettenbildung und Entartung der Kapseln können noch Involutionsformen nach einigen Generationen auftreten, wie: 1) atypische Ketten, manche mit rundlichen, scheibenförmigen Elementen (wie man sie häufig bei degenerierten Pneumokokken findet), 2) zusammengeschmolzene Kokken, die den lanzettförmigen gleichen, oder 3) ein Bild, das einen großen Coccus inmitten von 2 kleineren zeigt.

Zu beachten ist, daß verschmolzene Kokken eventuell Lanzettformen vortäuschen können. Echte Lanzettformen bilden diese Mikroorganismen nicht.

Eine morphologisch interessante und merkwürdige Eigentümlichkeit ergab das Wachstum des Organismus bei Symbiose mit gewissen

1) So oft hier vom Serumagar die Rede ist, verstehe ich darunter eine Mischung von 3 Teilen Agar und 1 (oder etwas mehr) Teil steriler Ascitesflüssigkeit. Glukose-Serumagar enthält außerdem noch 2 Proz. Glukose.

gramnegativen Bacillen, deren Art bisher noch nicht näher festgestellt werden konnte. Unter diesen Züchtungsbedingungen traten Riesenkolonien auf, die lange Kette von 50—200 Gliedern und darüber zeigten.

**Kulturelle Eigenschaften.** Charakteristisch ist das eigentümliche Wachstum auf künstlichen Nährböden. Die beste Entwicklung sieht man auf Serumagar, Glukose-Serumagar oder Blutagar. Auch Löfflers geronnenes Blutserum ist günstig, obwohl in einem weit geringeren Grade.

Auf Serum- oder Glukose-Serum-Schrägagar findet man nach 18 bis 24 Stunden wässrige konvexe Kolonien von 1 mm oder weniger bis zu 3,5 mm im Durchmesser. Bei reflektiertem Licht erscheinen sie durchsichtig und farblos. Beim durchscheinenden Licht aber sehen sie bläulich oder milchig aus. In der Regel konfluieren die Kolonien alsbald und bedecken eine gut geimpfte Fläche mit einer saftigen, wässerigen, schimmernden Masse. Diese ist deutlich schleimartig, zuweilen in solchem Grade, daß man kleine Bröckchen kaum mit der Platinöse entfernen kann. Auf Glukose-Serumagar findet kein Weißwerden und kein Niederschlag des Nährbodens statt. Im allgemeinen wachsen die Kolonien reichlicher als beim *Pneumococcus*. Doch kann die „große, schleimartige“ Varietät des letzteren ebensogut wachsen, und ist dann makroskopisch vom *Streptococcus* nicht zu unterscheiden.

Auffallend ist die Schnelligkeit, mit der die oberste Wachstumsgrenze erreicht wird. Bei manchen Stämmen endet die Entwicklung schon nach 24 Stunden, bei anderen setzt dieselbe erst nach dieser Frist ein. Beobachtet man Schrägkulturen einige Tage lang bei Zimmertemperatur, so wird der wässrige Rasen abgeflacht und unsichtbar, und nur die restierenden Ränder erinnern an den vorhanden gewesenen Rasen, welcher jedoch bei durchscheinendem Lichte wieder deutlich zu bemerken ist.

Kleine oberflächliche Kolonien auf Serum- oder Glukose-Serumagarplatten flachen in der Regel nach 4—5 Tagen derart ab, daß sie kaum mehr zu bemerken sind. Größere Kolonien zeigen zuweilen eine vielen *Pneumokokken* eigene Erscheinung, nämlich eine zentrale Stelle, jedoch lange nicht so ausgeprägt, wie beim *Pneumococcus*.

Serumagar und Glukose-Serumagar sind die günstigsten festen Nährböden. Dieser Organismus wächst zum Unterschiede vom gewöhnlichen *Streptococcus* auf glukosehaltigen Serumnährböden nur um ein geringes besser, als auf dem einfachen Serumagarsubstrat.

Auf dem Löfflerschen wächst er verschieden stark.

Am schlechtesten gedeiht er auf einfachem Agar, sogar unter günstigsten Bedingungen, nämlich Neutralisierung und einem Peptongehalt von 2—2½ Proz.

In Lackmusmilch findet eine starke Säurebildung nach etwa 24 Stunden statt. Die meisten Stämme führen in 2—4 Tagen zur Gerinnung.

**Bouillon.** Ist diese neutral oder leicht alkalisch, mit Fleischinfusion und 2—2½ Proz. Pepton zubereitet, so findet in der Regel ein Wachstum statt. Jedoch zeigen einzelne Generationen keinerlei Neigung dazu. Ist die Kultur erfolgreich, so entsteht eine diffuse Trübung in 24—36 Stunden.

**Serumbouillon.** Einen ausgezeichneten Nährboden erhält man



dadurch, daß man zu neutraler oder leicht  $\frac{1}{2}$ -proz. saurer Bouillon  $\frac{1}{8}$  (oder etwas mehr) ihres Volumens sterile Ascitesflüssigkeit zusetzt. Allgemeine Trübung findet in der Regel in 24 Stunden statt, jedoch zeigen einzelne Stämme nur einen Bodensatz, der beim Schütteln zur allgemeinen dauernden Trübung führt. Das bei gewöhnlichen Streptokokken häufigere Wiederklarwerden nach Ablauf einiger Tage läßt sich bei unserem Organismus erst nach längerer Zeit beobachten.

**Kartoffel.** Häufig konnte man trotz des scheinbar fehlenden Wachstums auf der Kartoffel in Ausstrichpräparaten eine Vermehrung der Organismen konstatieren.

**Gelatine.** Die Stämme zeigen ein differentes Wachstum. Die meisten zeitigten spärliche, kleine, wässrige Kolonien auf neutraler Gelatine bei 22–24° C (nach 48–72 Stunden). Eine Anzahl von Stämmen wollte sich bei dieser Temperatur gar nicht entwickeln.

Alle Organismen wuchsen anaërob sowie aërob. Sehr gute Kolonien wuchsen in Serumagar oder Glukose-Serumagar-Stichkulturen. Im Stichkanal bildet sich ein grauer Schleier. Entfernt man etwas davon mit der Nadel, so zeigt es dieselbe schleimartige Struktur wie die Oberflächenkolonien.

Diese Streptokokken bewirken eine Spaltung vieler Kohlenhydrate. 9 Organismen wurden geprüft und wirkten säurebildend in Dextrose, Dextrin, Maltose, Laktose, Galaktose, Inulin, Lävulose und Saccharose<sup>1)</sup>. Keine Gärung fand statt in Dulcit, Rhamnose, Arabinose und Glycerin. Mannit wurde von gewissen Stämmen unter gewissen Bedingungen gespalten.

Der Organismus läßt sich im allgemeinen auf künstlichen Nährböden leichter am Leben erhalten als der *Pneumococcus*. Oberflächenkolonien auf Serumagar bleiben 1–2 Wochen, selten länger, am Leben, bei Zimmertemperatur. 24-stündige Kulturen auf Serumagar, bei einer Temperatur von 0°–4 $\frac{1}{2}$ ° C aufbewahrt, können nach 1 Monat übertragen werden. Stichimpfungen können ihre Lebensfähigkeit 2 Monate lang erhalten.

Eine Eigentümlichkeit dieses Organismus in der Symbiose mit einem gewissen gramnegativen *Bacillus* ist bereits erwähnt worden (24). Hier sei nur betont, daß eine rasche Entwicklung des *Streptococcus* schon bei Zimmertemperatur stattfinden kann. Auf Glukose-Serum-Agarplatten wachsen kolossale schleimige Kolonien, die fast nur aus langen Ketten bestehen.

**Die pathogene Wirkung.** Alle von mir beobachteten Organismen zeigten zwei bemerkenswerte Eigenschaften: 1) einen hohen Grad von Virulenz und 2) eine Fortdauer der Virulenz in den Kulturen. Weiße Mäuse und Kaninchen waren sehr empfindlich; Meerschweinchen etwas weniger. Nach subkutaner Einverleibung bei weißen Mäusen führte in einigen Fällen eine Platinöse einer 24-stündigen Serumbouillonkultur in etwa 48 Stunden zum Tode. Größere Dosen töteten noch schneller. In der Regel war  $\frac{1}{2}$ –1 ccm einer 24-stündigen Serumbouillonkultur für Mäuse in 18–36 Stunden tödlich. Sie zeigten stets das Bild einer raschen Septikämie mit reichlichen Streptokokken an der Injektionsstelle und im Blute. Die pathologischen Veränderungen variieren; sie sind am besten da ausgeprägt, wo die Tiere am längsten

1) Die Technik dieser Studien über fermentative Eigenschaften der Streptokokken wird in einer künftigen Arbeit geschildert werden.

am Leben bleiben. In kurzdauernden Fällen kann alles fehlen, mit Ausnahme des Lokalödems und Blutungen. Doch findet man gewöhnlich ein klebrig-schleimiges Exsudat, starkes Oedem und Blutungen. Bemerkenswert ist es, wie dick und gelatinös das Exsudat werden kann. Zuweilen bedeckt ein fibrinös eitriges, aber schleimartiges Exsudat den ganzen Rücken des Tieres. Wirklicher Eiter war dabei nie nachweisbar.

Sehr häufig war diese lokale Reaktion das Einzige, was grob-makroskopisch auffiel. Selten fand sich eine schleimige, peritoneale oder pleurale Flüssigkeit. Echte Peritonitis und Pleuritis kommen nur nach protrahierter Sepsis vor und können sich mit fibrinös eitrigem Hepatitis und Peritonitis vergesellschaften.

Meerschweinchen sind den subkutanen Impfungen gegenüber widerstandsfähiger und überstehen häufiger die Infektion. Septische Tiere leben meist einige Tage (2—6 oder länger). Man findet dasselbe schleimige Exsudat mit stärkerer Blutung und mehr Oedem. Manchmal ist die Milz vergrößert und weich, die Nebennieren hämorrhagisch, und die Lungen hyperämisch. Bleibt das Tier am Leben, so entstehen Abscesse an der Impfstelle, und die darüber liegenden großen Hautbezirke werden meist nekrotisch.

Kaninchen verhalten sich nach kleinen subkutanen Impfungen verschieden. Große Dosen sind meist tödlich. Die akute Bakteriämie führt in 2—4 Tagen zum Tode. Lokal findet man die bereits oben geschilderten Veränderungen. Die Milz ist oft geschwollen und ihre Kapillaren mit Diplokokken überfüllt; die Lungen sind oft hyperämisch; die Leber kann akut degenerieren oder zeigt diffuse Entzündung; die Nieren sind parenchymatös entartet oder parenchymatös entzündet, besonders in den Glomerulis. Die Nebennieren sind hämorrhagisch; die Bauch- und Pleurahöhlen, zwar meist ohne Befund, enthalten zuweilen ein serös eitriges Exsudat.

Intraperitoneale Einspritzungen führten sicher zum Tode bei jeder untersuchten Tierart.  $\frac{1}{4}$  ccm einer 18—24-stündigen Serumbouillonkultur tötet Meerschweinchen oder Kaninchen in 16—72 Stunden. Ausnahmsweise ist der Verlauf langsamer; so starb ein Kaninchen erst nach 7 Tagen. Man fand einen interstitiellen Absceß an der Einstichstelle und allgemein serös-eitrige Peritonitis und Pleuritis. Mäuse sind noch empfindlicher und zeigen ein stark klebriges Peritonealexsudat.

Versuche mit den ersten 10 Stämmen ergaben, das der S. m. c. seine Virulenz wochen- und monatelang erhalten kann, trotz vieler Ueberimpfungen. So war der S. m. c. I am 9. September 1904 isoliert und am 20. März 1905 noch stark virulent für weiße Mäuse. Dasselbe gilt von Stämmen II—X (die allerdings nicht so lange beobachtet wurden). Folgende Tabelle führt einige Versuche an weißen Mäusen vor und zeigt den Grad sowie die Dauer der Virulenz dieser Organismen:

S. m. c. I			S. m. c. II.		
Datum	Quantität <sup>1)</sup>	Lebensdauer	Datum	Quantität	Lebensdauer
30. Sept. 1904	1 ccm	18 Std.	24. Jan. 1904	1 ccm	36 Std.
15. Okt. 1904	1 "	16 "	10. Febr. 1905	1 "	2 Tg. 12 Std.
13. Jan. 1905	0,75 "	2 Tg. 12 Std.	14. " 1905	1 "	2 "
12. März 1905	1 "	18 Std.	16. März 1905	0,75 "	24 Std.
15. " 1905	1 Oese <sup>2)</sup>	45 "	18 " 1905	1 Oese	45 "
20. " 1905	1 "	6 Tage	20. " 1905	1 "	40 "

1) 24-stündige Serumbouillonkultur; subkutan injiziert.

2) 1 Platinöse, in Salzlösung suspendiert.

S. m. c. IV			S. m. c. V.		
Datum	Quantität	Lebens- dauer	Datum	Quantität	Lebens- dauer
24. Jan. 1905	1 ccm	12 Std.	26. Jan. 1905	1 ccm	24 Std.
16. März 1905	0,75 „	16 „	12. März 1905	0,75 „	18 „
S. m. c. VI.			S. m. c. VII.		
24. Jan. 1905	1 ccm	36 Std.	28. Jan. 1905	1 ccm	48 Std.
12. März 1905	0,75 „	26 „	1. März 1905	0,75 „	24 „
S. m. c. VIII.			S. m. c. IX.		
28. Jan. 1905	1 ccm	36 Std.	30. Jan. 1905	1 ccm	39 Std.
12. März 1905	0,75 „	18 „	20. März 1905	0,75 „	24 „
S. m. c. X.					
31. Jan. 1905	1 ccm	38 Std.			
13. März 1905	0,75 „	36 Std.			

Meerschweinchen, welche mit vielfach übertragenen Stämmen geimpft wurden, konnten häufig der subkutanen Impfung Widerstand leisten, starben aber rasch nach intraperitonealen Einspritzungen.

(Schluß folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Beiträge zur Aetiologie der Genickstarre.

[Aus dem Operationskurse für Militärärzte, München.]

Von Oberstabsarzt Prof. Dr. **Dieudonné.**

Nach den eingehenden Untersuchungen bei den Genickstarreepidemien der letzten Jahre ist mit Sicherheit der *Micrococcus meningitidis intracellularis* als der Erreger der epidemischen Genickstarre anzusehen. Auch bei einer im Februar 1906 beim bayerischen 1. Trainbataillon aufgetretenen kleinen Epidemie wurde er konstant nachgewiesen.

Daß aber auch einzelne Fälle von Meningitis vorkommen können, bei denen nur Pneumokokken gefunden werden, beweist ein kurz vor Ausbruch der Epidemie beim Trainbataillon dem hiesigen Garnisonlazarett zugegangener Fall des 2. Infanterieregiments, der die schwersten Erscheinungen der Genickstarre, Nackenstarre und Delirien zeigte und bei dem im Nasensekret, im Blut und im Eiter eines Abscesses an der Hand nur Pneumokokken mikroskopisch und kulturell nachgewiesen wurden. Die Gehirnerscheinungen gingen bald zurück; später bildete sich im Verlaufe der Pneumokokkensepsis ein Nierenabsceß, im stark hämorrhagischen Urin und in den darin enthaltenen fibrinös-eiterigen Fetzen wurden massenhaft Pneumokokken nachgewiesen. Der Kranke ging an dem Nierenabsceß zu Grunde und bei der Sektion fanden sich im Absceßleiter massenhaft Pneumokokken mikroskopisch und kulturell in Reinkultur.

Von den 6 Fällen des Trainbataillons endete der erste unter sehr raschem Verlaufe tödlich. In der Lumbalpunktionsflüssigkeit und im Blute wurden durch das Kulturverfahren Meningokokken festgestellt, ebenso bei der Sektion in dem dicken Eiter an der Gehirnbasis und im Rückenmark. In der Lunge, die die Zeichen einer septischen Pneumonie zeigte, wurden mikroskopisch neben vereinzelten typischen Meningokokken massenhaft Pneumokokken gefunden, ebenso in dem reichlich aus Mund und Nase ausfließenden Nasensekret und Lungenödem;

auch hier gelang die Kultur. In allen Präparaten lagen die Meningokokken in der charakteristischen Kaffeebohnenform oft zu Tetraden vereinigt meist intracellulär; besonders schön sichtbar sind sie bei der Färbung mit eosinsaurem Methylenblau nach May<sup>1)</sup>, wobei sich die dunkelblau gefärbten Kokken von dem rötlichen Saum der Leukocyten abheben. Nach der Gramschen Färbung entfärbten sie sich rasch (3 Minuten Karbolgentianaviolett, 2 Minuten Jodjodkalilösung, kurzes Auswaschen in 3-proz. Acetonalkohol, so lange Farbstoff abgeht, Abspülen in Wasser, Nachfärben mit verdünnter Ziehlscher Fuchsinlösung). Zur ersten Kultur wurde Serumagar, Ascitesagar und Loefflersches Serum verwendet. Nach 24 Stunden bildete sich ein sehr zarter Rasen, der sich in den nächsten Tagen etwas besser entwickelte. Auf gewöhnlichem Agar konnte bei der direkten Züchtung aus dem Körper ein Wachstum nicht erzielt werden. In den Ausstrichen aus den ersten Kulturen liegen die Kokken meist als Diplo- oder Tetrakokken, niemals in Kettenform angeordnet; oft sieht man ungleichmäßig gefärbte oder aufgetriebene Formen, die als Degenerationsformen aufzufassen sind. Bei 22° findet kein Wachstum statt. Anfangs sind die Kulturen so empfindlich, daß man sie täglich abstechen und stets bei 37° halten muß, allmählich findet eine Anpassung an die künstlichen Nährböden statt, so daß sie nach 10—12maliger Umzüchtung längere Zeit bei 37° lebensfähig bleiben und nur noch alle 6—7 Tage abgestochen werden müssen. Das Wachstum ist jetzt auch etwas reichlicher und erfolgt auch auf gewöhnlichem Agar. Besonders genau wurde das Verhalten zu der Gramschen Färbung untersucht und zur Kontrolle auf dem gleichen Objektträger stets Staphylokokken mitgefärbt. Die direkt aus dem Körper gezüchteten Kulturen waren stets gramnegativ. Dagegen schienen, wie auch Jaeger und Rautenberg<sup>2)</sup> beobachteten, bei den länger fortgezüchteten Kulturen die Entfärbung nicht mehr so prompt und intensiv zu erfolgen, wie bei den ersten Kulturen, doch muß man sie trotzdem als gramnegativ bezeichnen. Bei 22° konnte bei den älteren Kulturen ein ganz schwaches Wachstum erzielt werden.

Im Nasensekret der 6 Kranken wurden 4mal Meningokokken nachgewiesen. Die Entnahme erfolgte unter Benutzung des Nasenspekulums mit einer kräftigen langen Platinöse, die bis zur hinteren Rachenwand geführt wurde; das Sekret wurde auf Objektträger und Serum- oder Ascitesagarplatten ausgestrichen. Zur Identifizierung der Kulturen wurde anfänglich ein selbsthergestelltes Serum benützt, das nach Jaeger<sup>3)</sup> durch 3malige Injektion durch Erhitzen auf 56° abgetöteter Kulturen (1—3 Petri-Schalen) gewonnen war und in Verdünnung von 1:100 agglutinierte, später stand ein von der Firma G. Merck überlassenes hochwertiges Serum (1:300) zur Verfügung. Zur Beobachtung der Agglutination eignen sich niemals Bouillonkulturen, sondern nur Aufschwemmungen von frischen Kulturen von Serumagarplatten in 0,8-proz. Kochsalzlösung; allerdings zeigen einzelne Kulturen schon in der Kochsalzlösung leichte Ausfällung, so daß vorher eine Filtration notwendig ist. Die Beobachtung erfolgte mikroskopisch und makroskopisch nach 1 Stunde, nach 2 Stunden und nach 24 Stunden; durch normales Serum wurden manche Stämme bei 1:40 agglutiniert.

Zur Sicherung der Diagnose aus dem Nasensekret genügt die mi-

1) Spiegel, Centrabl. f. Bakt. Bd. XL, 1906.

2) Veröffentlichungen auf dem Gebiete des Militär-Sanitätswesens. Heft 31. 1905.

3) Jaeger, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLIV, 1903.

makroskopische Untersuchung allein nicht, stets muß das Kulturverfahren und die Agglutination durchgeführt werden. Zunächst wurde ein Präparat des Nasenausstriches nach May und ein zweites nach Gram gefärbt, bei negativem Ausfall dieser Färbung wurden besonders genau die auf den Platten gewachsenen Kulturen untersucht. Die Züchtung der Meningokokken aus der Nase mißlang zweimal infolge Ueberwucherung durch Staphylokokken; im allgemeinen wachsen aber, wenn man das Sekret aus den hinteren Rachenpartieen entnimmt, wenig andere Bakterien.

Besonders genau wurde auf das Vorhandensein der Meningokokken im Blute geachtet, auf das insbesondere Jakobitz<sup>1)</sup> hingewiesen hat. Mittels Spritze wurden aus der Armvene 5–10 ccm Blut entnommen und zu Serumagarplatten verarbeitet. Von 5 Fällen wurden bei 4 Meningokokken im Blute nachgewiesen, darunter in einem Falle, bei dem im Nasensekret keine Kokken sich fanden. Mikroskopisch wurden sie im Blute auch mit der Mayschen Färbung niemals gefunden. Bei einem Kranken wurden die Kokken außer im Blute auch im Eiter eines Karbunkels durch Kultur und Serumdiagnose nachgewiesen. Die Meningokokken finden sich also wahrscheinlich häufig im Blute und können wie Streptokokken und Pneumokokken zu lokaler Eiterung führen; die Verbreitung der Meningokokken im Körper erfolgt wohl hauptsächlich auf dem Blutwege. In den späteren Stadien der Krankheit und in der Rekonvaleszenz fanden sich die Kokken nicht mehr. Das Kulturverfahren aus dem Blute ist sehr zu empfehlen, da ein Ueberwuchern durch andere Keime nicht stattfindet; auch scheinen die aus dem Blute gezüchteten Meningokokken etwas kräftiger auf den Serumagarplatten zu wachsen.

Das von den Kranken gewonnene Blut kann man außerdem noch zur Serodiagnose verwenden; 3 der untersuchten 5 Fälle zeigten Agglutination mit Meningokokken bei einer Verdünnung von 1:60–1:100; in der Rekonvaleszenz war die Reaktion negativ.

In der Lumbalflüssigkeit wurden die Meningokokken einmal festgestellt; bei einem Rekonvaleszenten wuchsen sie weder mit direkter Kultur noch nach Anreicherung; auch zeigte die Flüssigkeit keine Agglutination. In den übrigen Fällen wurde die Lumbalpunktion nicht ausgeführt. Im Inhalt von Herpesbläschen wurden niemals die Kokken festgestellt.

Bei den letzten Epidemien wurden wiederholt Meningokokken im Nasensekrete von Gesunden oder von leicht an Schnupfen, Kehlkopf- und Rachenkatarrh Erkrankten aus der Umgebung der Kranken nachgewiesen [Albrecht und Ghon<sup>2)</sup>, v. Lingelsheim<sup>3)</sup>, Jaeger und Rautenberg<sup>4)</sup>, Jakobitz<sup>5)</sup>, Ostermann<sup>6)</sup>]. Bei allen vom Trainbataillon im Lazarett wegen derartiger katarrhalischer Erscheinungen zugegangenen Soldaten, im ganzen 29, wurde das Nasensekret in der beschriebenen Weise entnommen. Dabei fanden sich bei 4 Mann mikroskopisch und kulturell Meningokokken, keiner davon erkrankte später

1) Jakobitz, Münch. med. Wochenschr. 1905.

2) Albrecht und Ghon, Wien. klin. Wochenschr. 1905.

3) v. Lingelsheim, Deutsche med. Wochenschr. 1905.

4) Veröffentlichungen aus dem Gebiete des Militär-Sanitätswesens. Heft 31. 1905.

5) a. a. O.

6) Ostermann, Deutsche med. Wochenschr. 1906 No. 11.

an Meningitis. In einem Falle wurden mikroskopisch intracelluläre gram-negative Kokken gefunden, die genauere Untersuchung der Kultur ergab aber, daß es sich um den dem Meningococcus so nahestehenden *Micrococcus catarrhalis* (R. Pfeiffer) handelte; er zeigte alle von Ghon und H. Pfeiffer<sup>1)</sup> genauer festgestellten Unterscheidungsmerkmale: kräftigeres Wachstum auf allen Nährböden, auch auf gewöhnlichem Agar und auch bei Temperaturen unter 20° C, ferner war die Agglutination mit dem Merckschen Serum bei 1:100 negativ. Die mikroskopische Untersuchung allein genügt also nicht zur sicheren Diagnose. In einem Falle wurde aus der Nase eine Streptokokkenart gezüchtet, die nach ihrer Lagerung in Diplo- und Kettenform, durch das regelmäßige Vorhandensein einer Kapsel auch bei längerer Fortzüchtung auf Serumagar und die schleimige Beschaffenheit der Kultur als der von Schottmüller beschriebene *Streptococcus mucosus* angesehen werden mußte.

Weiterhin wurde bei sämtlichen Mannschaften (im ganzen 39) eines Zimmers, in dem mehrere Genickstarrefälle vorgekommen waren, das Nasen- und Rachensekret untersucht. Bei 5 Mann wurden mikroskopisch und kulturell Meningokokken nachgewiesen; alle diese und 2 der Erkrankten waren Bettnachbarn; einer davon erkrankte 2 Tage nach der Sekretentnahme mit Kopfweh und Erbrechen, doch blieb er gesund; bei zwei Kokkenträgern fand sich heftiger Nasen- und Rachenkatarrh, die zwei anderen hatten keinerlei katarrhalische Erscheinungen. Alle 5 Mann wurden im Lazarett isoliert, die späteren Untersuchungen ergaben bei zwei wiederholt Meningokokken; sie wurden erst entlassen, als die wiederholte Untersuchung des Nasensekretes ein negatives Resultat ergeben hatte. Bei einem Mann wurden mikroskopisch gramnegative intracelluläre Kokken in sehr großer Anzahl gefunden, so daß das Präparat genau wie der Ausstrich einer frischen Gonorrhöe aussah, auf den Platten aber wuchs nur der *Micrococcus catarrhalis*. In 3 Fällen wurden mikroskopisch gramnegative Kokken gefunden, die Platten blieben aber steril; ob es sich hier um Meningokokken handelte, ist nicht sicher zu sagen; der negative Ausfall der Kulturversuche spricht eher dafür. Bei der nur einmaligen Untersuchung der 39 gesunden Mannschaften dieses Zimmers wurden also bei 5 Mann (in 12,8 Proz.) Meningokokken durch die Kultur festgestellt, bei 3 weiteren Fällen ist der Befund von Kokken sehr wahrscheinlich. Diese Kokkenträger spielen sicher, wie namentlich Ostermann genauer angeführt hat, eine wichtige Rolle bei der Uebertragung, da sich beim Husten die Kokken in Form feinsten Tröpfchen bis zu 1 m verspritzen. Von unseren Kokkenträgern des infizierten Zimmers hatten nur zwei stärkere katarrhalische Erscheinungen, zwei andere zeigten keine Spur davon. Umgekehrt fanden sich bei den wegen Rachenkatarrhs, Schnupfen, Mandelentzündung u. a. dem Lazarett überwiesenen 29 Leuten nur 4mal Meningokokken, bei allen anderen dagegen nicht. Man kann also aus dem Befunde katarrhalischer Erscheinungen bei Personen aus der Umgebung Meningitiskranker nicht auf das Vorhandensein von Meningitis schließen und umgekehrt können ganz Gesunde, die keinerlei Katarrh der oberen Luftwege zeigen, Kokkenträger sein.

Weitere Untersuchungen wurden angestellt über das Vorhandensein von Meningokokken in dem Nasensekret von Gesunden, die keine Be-

1) Ghon und Pfeiffer, H., Zeitschr. f. klin. Med. Bd. XLIV. 1901.

rührung mit Genickstarrekranken hatten, und zwar bei 20 Mann des 1. Infanterie-Regiments, bei dem keinerlei Erkrankungen vorgekommen waren. In 2 Fällen fanden sich gramnegative intracelluläre Kokken in sehr großen Mengen, die ohne weitere Untersuchung sicher als Meningokokken angesehen worden wären, aber die Kultur ergab den *Micrococcus catarrhalis*. Auch v. Lingelsheim, Jakobitz und Ostermann fanden bei derartigen Kontrolluntersuchungen intracelluläre Kokken, die aber keine Meningokokken waren. Man sieht daraus wieder die Wichtigkeit des Kulturverfahrens; die mikroskopische Diagnose allein genügt nicht. Bei Gesunden, die keine Berührung mit Meningitiskranken hatten, scheinen also Meningokokken nicht vorzukommen und die Ansicht von Vansteenberghé und Grysez<sup>1)</sup>, daß sie in der normalen Nase so häufig vorkommen wie die Pneumokokken in der Mundhöhle, ist nach den in Deutschland gemachten Beobachtungen wohl nicht richtig.

Die Resistenz der Meningokokken gegen Austrocknen war sehr gering bei den frisch aus dem Körper gezüchteten Kulturen; an Deckgläsern angetrocknete Kulturen waren schon nach 24 Stunden bei 22° und bei 37° abgestorben. Dagegen zeigten die längere Zeit auf künstlichen Nährböden fortgezüchteten Kulturen etwas größere Widerstandsfähigkeit und blieben an Deckgläsern angetrocknet bis zu 3 Tagen, an Seidenfäden bis zu 5 Tagen lebensfähig. Ob diese Empfindlichkeit auch bei den mit dem Nasensekret auf den Boden entleerten Meningokokken vorhanden ist, läßt sich aus den Versuchen mit den Kulturen nicht sicher sagen, da unsere künstlichen Nährböden den Meningokokken offenbar nicht zusagen und die Kulturen daher wenig lebensfähig sind. Die Infektion erfolgt sicher hauptsächlich von Person zu Person durch feinste Tröpfchen oder durch Kontakt von frisch entleertem Nasen- und Rachenschleim aus, eine Inhalationsinfektion durch Staub ist wenig wahrscheinlich. Immerhin könnten die in kompakten Massen mit dem Nasenschleim entleerten Kokken doch vielleicht länger lebensfähig bleiben und bei so starken Erschütterungen des Fußbodens, wie es beim Militär bei Appellen u. a. oft der Fall ist, aufgewirbelt werden. In den Staub- und Fußbodenproben des Zimmers, in dem die Fälle vorgekommen waren, gelang es aber nicht, Meningokokken festzustellen.

Bei der großen Verbreitung der Kokkenträger wäre eine systematische Behandlung der Nase und des Rachens mit wirksamen antiseptischen Mitteln angezeigt; in unserem Falle wurde bei sämtlichen Angehörigen des Bataillons ein Sozodol-Schnupfpulver versucht, bei den Kokkenträgern war kein nachweisbarer Erfolg zu beobachten. Nach Ostermann sind in Schlesien derartige Versuche im Gange. Vielleicht eignet sich auch das von Merck hergestellte Serum zur lokalen Behandlung.

Ueber die bakterizide Wirksamkeit des Merckschen Serums ließen sich keine Untersuchungen anstellen, da die isolierten Kulturen für Mäuse und Meerschweinchen nicht pathogen waren. Selbst bei intraperitonealer Injektion von mehreren Oesen blieben von 4 Meerschweinchen 3 am Leben. Bei Entnahme des Peritonealexsudates 2 Stunden nach der Infektion waren die Meningokokken größtenteils innerhalb der Leukocyten. Ueberhaupt scheint die Aufnahme der Meningokokken durch die Leukocyten leicht zu erfolgen. Bringt man Leukocyten, die man durch Injektion von Aleuronat in die Bauchhöhle von Meerschweinchen

1) Vansteenberghé und Grysez, Annales de l'Institut Pasteur. 1906. No. 1.

bekommen hat, im Glase mit einer Aufschwemmung zusammen, so findet man nach kurzer Zeit ausgesprochene Phagocytose; noch deutlicher und stärker wird diese, wenn man zu dem Gemisch etwas Meningokokkenserum zusetzt, doch ist der Unterschied nicht so stark, daß man von einer spezifischen bakteriotropen oder opsonischen Wirkung des Serums sprechen kann.

*Nachdruck verboten.*

## Zur Aetiologie der Geflügeldiphtherie.

[Aus dem Hygienischen Institut zu Kiel (Prof. B. Fischer).]

Von Dr. **Reiner Müller**, 1. Assistent.

Bei Untersuchungen über ein von mir gefundenes „Diphtheriebacillen-ähnliches Stäbchen bei Anginen mit scharlachartigem Exanthem“ (102) lernte ich Blutagar als einen der besten Nährböden dieses Stäbchens schätzen. Als zur Zeit dieser Studien im Herbst 1905 dem Kieler Hygienischen Institute 2 an Geflügeldiphtherie eingegangene Hühner übersandt wurden, wandte ich auch Blutagar zu Aussaaten an. Hierbei fand ich auf allen von den diphtherisch erkrankten Teilen beider Tiere angelegten Blutagarplattenkulturen ein durch seine Hofbildung auffallendes Stäbchen, welches auf den gleichzeitig besäten Agarplatten nicht zu finden war. Letzteres erschien mir als Grund, weshalb dieses noch nicht beschriebene Stäbchen den zahlreichen bisherigen Untersuchern dieser Krankheit entgangen sein konnte. Der Bacillus erwies sich als ein Verwandter meines oben genannten Stäbchens und somit auch des Erregers der menschlichen Diphtherie. Ich fand ihn weiterhin niemals bei gesunden oder anders erkrankten Tieren; fand ihn jedoch bei einem 3. Huhne derselben Epizootie und bei den 3 mir von zwei weiteren Seuchenherden zugegangenen Tieren in allen diphtherisch erkrankten Teilen. Es gelang mir ferner, mit Reinkulturen das typische Krankheitsbild zu erzeugen und dann wieder das Stäbchen zu isolieren, ganz wie bei den natürlich erkrankten Tieren. Ich glaube daher dieses Stäbchen als Erreger der Krankheit ansehen zu dürfen und werde es im nachfolgenden als „Hühnerdiphtheriebacillus“ bezeichnen.

### Uebersicht über die bisherigen Untersuchungen.

B. Galli-Valerio hat 1897 in seiner Arbeit: „L'état actuel de la question sur l'identité de la diphtérie de l'homme et des oiseaux“ eine Zusammenstellung über diesen Gegenstand gemacht. Bezüglich der Einzelheiten sei darauf verwiesen. Er sagt: „Je suis convaincu qu'avec ce nom de diphtérie des oiseaux, on a fait un déplorable confusion de différentes affections. Comme chez l'homme à côté de la diphtérie à bacille de Löffler, il existe des pseudodiphtéries déterminées par le streptocoque, le staphylocoque, le petit coque de Roux et Yersin, le bacille de Friedländer etc., est on en droit de supposer que chez les oiseaux existent des fausses membranes d'origine différente“. — L. Pfeiffer (1889) sagt, daß hier „eine Konfusion in Bezug auf die Nomenklatur herrscht, wie kaum auf einem anderen Gebiete der Pathologie“. Die Konfusion ist auch heute noch nicht überwunden. Ich glaube aus der Literatur entnehmen zu können, daß das von mir untersuchte Krankheitsbild das am häufigsten vorkommende unter den sogen. „Geflügeldiphtherieen“ ist. Ich nenne es „Hühnerdiphtherie“, weil die Hühner anscheinend bei weitem am häufigsten davon befallen werden, wenn sie auch nicht die einzigen dafür empfänglichen Tiere sind. — Hiervon sind zu unterscheiden:

I. Die Taubendiphtherie Löfflers (1884); hervorgerufen durch *Bac. diphtheriae columbarum*. Von Löffler selbst für nicht identisch mit der Hühnerdiphtherie erklärt; nicht auf Hühner übertragbar. Der Erreger findet sich konstant in den inneren



Organen, während diese bei der Hühnerdiphtherie durchweg keimfrei sind. Die Befunde Löfflers wurden bestätigt von Babes und Puscariu (1890), Saint Yves-Ménard (1890), Ritter (1895).

II. Die Tunesische Geflügeldiphtherie von Loir und Ducloux (1894) beschrieben. Sie verläuft schnell, ist stets mit Diarrhöen verbunden; für die meisten Geflügelarten gleichmäßig ansteckend. Diphtherische Beläge finden sich nicht nur auf den Schleimhäuten des Kopfes, sondern auch in der Trachea und im Darmkanal. Es ist eine ausgesprochen septikämische Erkrankung. Durch alle genannten Merkmale unterscheidet sie sich von der „Hühnerdiphtherie“.

III. Die „Pasteurellosen“. Einigen Autoren scheint eine Verwechselung mit Geflügelcholera untergelaufen zu sein. Jedenfalls handelt es sich bei derartigen Erkrankungen um Septikämien, wenn dabei auch diphtherische Beläge vorkommen mögen. Hierhin gehören die Arbeiten von Murajeff (1901), Guérin (1903) und Petit (1903). Auch Moore (1895) beschrieb eine Pasteurella-Art.

IV. Die Geflügelpocken sind augenscheinlich auch manchmal mit der Hühnerdiphtherie identifiziert worden; so von Rivolta (1869, 1873, 1880), Silvestrini (1873), Pfeiffer (1889). Genauer hierüber bei Reischauer. Bei pockenkrankem Geflügel scheinen bisweilen diphtherische Affektionen vorzukommen; ob diese aber durch die Erreger der Geflügelpocken entstehen, oder auf sekundärer Infektion durch den Hühnerdiphtheriebacillus oder andere Keime beruhen, bedarf wohl noch genauerer Untersuchung.

Schalten wir die genannten Krankheiten aus, so scheinen mir die übrigen Autoren meist das Krankheitsbild untersucht zu haben, welches ich als „Hühnerdiphtherie“ bezeichnen möchte: ein infektiöser, ziemlich chronisch verlaufender, auf die Kopfschleimhäute beschränkter, entzündlich exsudativer Prozeß ohne wesentliche Mitbeteiligung der äußeren Haut oder der inneren Organe. Als Infektionskrankheit ist die Hühnerdiphtherie von wissenschaftlichen Untersuchern anscheinend durchweg angesehen worden. Ueber die Aetiologie derselben herrschten bisher sehr verschiedene Ansichten.

A. Der Diphtheriebacillus, der Erreger der Diphtherie des Menschen, sollte die Ursache sein. Bei der äußeren Ähnlichkeit der Affektionen mußte diese Frage aufgeworfen werden; hatte man doch schon die Benennung wegen der Analogie gewählt, wie man auch umgekehrt als „Krup“ derartige menschliche Affektionen bezeichnet; „Croup“ nennen nämlich nach Cooke die Schotten die in Deutschland volkstümlich „Pips“ heißende Hühnerdiphtherie. So nahe die Annahme der gleichen Aetiologie beider Krankheiten liegt, so ist dafür kein exakter Beweis erbracht worden. Das so oft angeführte gleichzeitige Vorkommen hat bei der Häufigkeit beider Erkrankungen nichts Auffallendes; ferner ist es ja auch möglich, daß die Hühnerdiphtheriebacillen beim Menschen Anginen hervorrufen könnten, die zu Verwechselungen veranlassen; auch könnte dies geschehen durch sekundär bei der Hühnerdiphtherie vorkommende Keime wie z. B. durch den Nekrosebacillus (s. u.). Gegen die Identität sprechen u. a. die Erfolglosigkeit des Diphtherieheilerums bei den Tieren; das Fehlen diphtherischer Lähmungen, die sich aber mit dem Diphtherietoxin künstlich erzeugen lassen (Yersin und Roux 1888); vor allem aber das Fehlen eines einwandfreien Diphtheriebacillennachweises. Je exakter im Laufe der Jahre sich die bakteriologische Diphtheriediagnose gestaltet hat, um so mehr verlor die Identitätslehre an Boden und heute dürfte es kaum noch einen kompetenten Verfechter derselben geben. Für die Identität sind seinerzeit eingetreten: Nicati (1879), Menziès (1881), Gerhardt (1883), Stumpf (1883), Chicoli (1884), Boing (1886), Wheler (1887), Turner (1887), Hingworth (1887), Tissier (1887), Longuet (1887 und 1892), Chaveau (1887), Paulinis (1888), Barbier (1889 und 1891), Bilhaut (1890), Belmont (1890), Debie (1892), Cole (1894), Artault de Vevey (1895), Gallée (1895), Ferré (1897), Stevenson (1898), Maxutow (1902). Demgegenüber traten als Gegner der Identität auf: Trasbot (1879), Mégnin (1879), Sante Sirena (1884), Rivolta (1885), Colin (1885), Pütz (1887), Penzoldt (1887), Yersin und Roux (1888), Nocard (1889), Klein (1889), Saint Yves-Ménard (1890), Ritter (1895), Gratia und Liénaux (1896), Barella (1896), Harrison (1903), Streit (1904).

B. Der Nekrosebacillus, der als Erreger der Kälberdiphtherie und verwandter Affektionen gilt, findet sich nicht selten bei Geflügeldiphtherie. Ich fand ihn bei einem Huhn in großen Mengen in den Käsmassen des Konjunktivalsackes, deren Verimpfung unter die Rückenhaut weißer Mäuse typische Nekrose erzeugte, mit fast Reinkultur von Nekrosebacillen. Ich vermisse ihn jedoch in den „insulären“ Belägen des Maules und fand ihn bei 3 Hühnern überhaupt nicht. Auch Ritter (1895), der ihm eine ätiologische Bedeutung zuschreibt, fand ihn nicht bei allen erkrankten Tieren; ebenso Leth (1903) nicht, der ihn als etwas Sekundäres betrachtet. Er vermag sich eben auf den erkrankten Teilen leichter anzusiedeln, wo ihm vielleicht die anderen üppig wuchernden Keime trotz der Nähe des Luftsauerstoffes durch Symbiose günstigere Existenzbedingungen

schaffen. Untersuchungen der letzten Jahre haben ergeben, daß die Nekrosebacillen auch beim Menschen diphtherisch-nekrotische Prozesse hervorrufen können. Ellermann hat derartige schwere Halsaffektionen beschrieben. Ich selbst untersuchte im März 1905 eine gutartige Angina, die augenscheinlich durch den Nekrosebacillus hervorgerufen war:

8-jähriges Mädchen; lakunäre Angina; mäßiges Fieber; Mandelbelag dem Kieler Hygienischen Institut zur Untersuchung auf Diphtheriebacillen am 2. und 3. Krankheitstag auf sterilen Tupfern übersandt. Keine Diphtheriebacillen; nur vereinzelte Kokken. Dagegen im Ausstrichpräparat durchaus vorherrschend Nekrosebacillen, oft zu Büscheln verfilzt, gramnegativ; viele mit den charakteristischen, in ziemlich gleichmäßigen Abständen liegenden Körnern. Züchtung nur in Serumbouillon und Serumagarschüttelröhrchen gelungen. In letzteren die typischen buschigen Kolonien. — Patientin nach einigen Tagen gesund. Nach 6 Wochen bei erneuter Angina keine Nekrosebacillen mehr. — Bei der Untersuchung von etwa 800 weiteren Mandelabstrichen wurde im hiesigen Institut kein derartiger Befund mehr gemacht.

Es ist nicht ausgeschlossen, daß derartige Anginen durch Uebertragung von Tieren, auch Hühnern entstehen könnten; so daß man in diesem Sinne von einer Ansteckung durch diphtheriekranken Tiere sprechen könnte.

C. Protozoen sind von einigen Untersuchern bei Geflügeldiphtherie gefunden worden. Sofern es sich aber bei diesen Beschreibungen überhaupt um das hier zu besprechende Krankheitsbild handelt und nicht um Geflügelpocken (vergl. Reischauer), ist es nicht wahrscheinlich, daß diese Protozoen eine ätiologische Bedeutung hätten, wie dies Rivolta (1869 etc.), Silvestrini (1873), Davaine (1875), Perroncito (1886), L. Pfeiffer (1889), Mazzanti (1896) angenommen haben. Sie sind von den Nachuntersuchern, wie Friedberger (1879), Babes und Puscariu (1890) als Bewohner des gesunden Geflügelmaules festgestellt. Daß sie sich in den sich zersetzenden Exsudatmassen der kranken Tiere besonders reichlich ansiedeln können, ist leicht verständlich.

D. Der „Roup-Bacillus“ und *Bac. pyocyaneus* sollen nach H. Streit (1904), Ass. am Agric.-Coll. zu Guelph Ontario in Canada, die Ursache der Hühnerdiphtherie sein. Der Beschreibung gemäß beobachtete Streit dieselbe Krankheitsform, in Amerika „Roup“ genannt, wie ich. Bei 60 kranken Tieren fand er in 5 Fällen einen „typischen *Bac. pyocyaneus*“, mit dessen Reinkulturen er die Krankheit wiedererzeugt habe. Er züchtete aber bei anderen Tieren derselben Epizootie seinen „Roupbacillus“, mit dessen Reinkulturen er ebenfalls die Krankheit habe erzeugen können. Aber auch letzteres Stäbchen fand er mit Sicherheit nur in 5 Fällen und bei diesen auch nur in einzelnen erkrankten Teilen. Ich konnte aus der Streitschen Arbeit nicht ersehen, wie die Reinheit der zu Impfungen benutzten Kulturen (Agar und Bouillon) geprüft wurde; mikroskopische Untersuchung einfach gefärbter Präparate würde nicht genügt haben, das Vorhandensein des von mir gefundenen Stäbchens auszuschließen, und eine Aussaat auf Agar und Gelatine konnte das ebenfalls nicht, weil mein Stäbchen auf diesen Nährböden nicht in Einzelkolonien wächst, sich aber in Symbiose (s. u.) mit dem genannten Keime vielleicht vermehren konnte. Solche unreinen Kulturen würden bei Taubenpassage sehr wohl eine Anreicherung meines Stäbchens und so die von Streit betonte „Virulenzsteigerung“ des Impfmateriels zeigen können; wie ich selbst mein Stäbchen in dem Ausgangsmaterial unter der Haut von Meerschweinchen anreichern konnte. Ferner gibt die Streitsche Arbeit wenig Aufschluß darüber, wie die Impftiere von den erkrankten und „natürlich durchseuchten“ Tieren (Bacillenträger?) einwandfrei isoliert wurden, was bei der großen Zahl der zu pflegenden und zu untersuchenden Tiere nicht leicht gewesen sein dürfte.

### Untersuchung diphtheriekranker Hühner.

Am 19. Nov. 1905 wurden dem Kieler Hygienischen Institut 2 tote Hühner zur bakteriologischen Untersuchung übersandt mit der Angabe, daß auf demselben Geflügelhofe bereits 4 Tiere unter den gleichen Erscheinungen verendet seien.

Der Sektionsbefund war bei beiden Tieren ziemlich der gleiche: dicke gelbe Beläge, besonders am Gaumen, diesen völlig überziehend; im Kehlkopf gelbe lose aufsitzende Exsudate unterhalb der Stimmritze; die Nasenlöcher durch Krusten eingetrockneten Sekrets verstopft, beide Augen völlig vereitert; links beim 1., rechts beim 2. Huhne im Konjunktivalsacke dicke, gelbe, käsige Massen, mit der Pinzette leicht herauszuziehen. Süßlich widerlicher Geruch aller erkrankten Teile. Äußere Haut und innere Organe normal.

**Direkte Ausstrichpräparate:** Die Beläge erweisen sich als sehr zähe und lassen sich nur mit Mühe zwischen Objektträgern verreiben; Färbung nach Gram, Nachfärbung mit verdünntem Karbolfuchsin. Das mikroskopische Bild ist ziemlich verschieden, je nach dem Sitze der Beläge. In fast allen Ausstrichen viele gramnegative kleine Stäbchen, ferner fast gleich kleine grampositive Stäbchen, hie und da V-Formen bildend. Grampositive Kokken nur in geringer Zahl. In einem Gaumenbelag viele große grampositive Stäbchen, dem menschlichen Diphtheriebacillus am meisten gleichend, mit V-Formen, kolbenförmigen Endaufreibungen, und sogar im direkten Ausstrichpräparat mit Polkörnerfärbung nach Neisser. An Größe übertrafen sie durchschnittlich Diphtheriebacillen noch. Auf Grund ähnlicher Befunde hat sich z. B. Maxutow (1902) für die Identität mit der menschlichen Diphtherie ausgesprochen (Züchtung s. unten). — In den Käsemassen des Konjunktivalsackes eines Huhns sehr viele gramnegative, lange, unverzweigte Stäbchen- bis Fadenformen, die ich als Nekrosebacillen ansehen muß; viele mit dunkler gefärbten, in ziemlich gleichmäßigem Abstände liegenden Körnern. Bei dem anderen Huhne fand ich in entsprechenden Präparaten nur vereinzelte Nekrosebacillen. — Es war mir nicht möglich, irgend eine der gesehenen Bakteriensorten als besonders verdächtig zu bezeichnen, die Ursache des vorliegenden Krankheitsbildes zu sein.

(Fortsetzung folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Zur Frage über die Rolle der thermophilen Bakterien im Darmkanal des Menschen.

[Aus dem Bakteriologischen Laboratorium des Botanischen Kabinetts an der Kaiserlichen Militär-Medizinischen Akademie zu St. Petersburg.]

Von **N. N. Anitschkow**, St. Petersburg.

(Schluß.)

**Beobachtung No. 13.** In 10 Reagenzgläsern mit schwach alkalischer Bouillon wurden Faeces, und zwar je 6 Oesen pro Reagenzgläsern emulgiert, worauf sämtliche Reagenzgläsern in einen auf 62° C eingestellten Brutschrank gebracht wurden. Nach 24 Stunden wurden aus jedem Reagenzgläsern je 6 Oesen in je ein Reagenzgläsern mit schwach alkalischer Bouillon und in je ein Reagenzgläsern mit schwach alkalischem, schräg ausgegossenem Agar überimpft. Nachdem die Reagenzgläsern bei einer Temperatur von 64° C 24 Stunden im Brutschrank gestanden haben, war in sämtlichen mit Faecesemulsion beschickten Bouillon-Reagenzgläsern allgemeine Trübung der Bouillon nebst Bildung von leicht auf den Boden fallenden Membranen zu sehen, während sich auf den schrägen Agaroberflächen in sämtlichen 10 Reagenzgläsern nicht besonders stark entwickelte Membranen nebst Trübung der Kondensationsflüssigkeit gebildet haben.

**Beobachtung No. 14.** Versuchsanordnung genau so wie im vorangehenden Falle. Nachdem die Kulturen 24 Stunden bei einer Temperatur von 64–65° C im Brutschrank gestanden haben, zeigten von den 10 Bouillon-Reagenzgläsern 8 Bakterientwicklung, während

2 selbst nach einem 3-tägigen Verweilen im Brutschrank bei 64–65° C steril blieben. Auf den schrägen Agaroberflächen war Bakterienentwicklung in sämtlichen 10 Reagenzgläsern zu sehen.

Beobachtung No. 15. Versuchsanordnung wie in den beiden vorangehenden Fällen. Nach einem 24-stündigen Verweilen der Kulturen im Brutschrank bei 64° C war in sämtlichen 10 Bouillon-Reagenzgläsern, sowie in sämtlichen 10 Agar-Reagenzgläsern Bakterienentwicklung zu sehen.

Beobachtung No. 16. Versuchsanordnung wie in den vorangehenden Fällen, mit dem Unterschiede jedoch, daß die Faecesemulsion nicht in 10, sondern in 5 Bouillon-Reagenzgläsern hergestellt wurde. Nach einem 24-stündigen Verweilen der Kulturen im Brutschrank bei 64–66° C zeigten 4 Bouillon-Reagenzgläsern und sämtliche 5 schrägen Agaroberflächen, Bakterienwachstum. Ein Bouillon-Reagenzglas blieb bei einer Temperatur von 64–65° C 4 Tage lang steril.

Die Resultate der vorstehenden Beobachtungsserie sind übersichtshalber zu folgender Tabelle zusammengestellt:

Tabelle II.

Resultate bei der Infektion der Nährmedien mit nicht dichter Faecesemulsion (in Bouillon) nach 24-stündigem Verweilen derselben bei 60–66° C.

Reihenfolge der Beobachtungen	Wieviel Oesen Faeces wurden zur Herstellung der Bouillonemulsion verwendet?	Nach 24 Stunden wurden von der Emulsion Oesen abgeimpft		Wieviel Reagenzgläsern wurden infiziert?		In wieviel Reagenzgläsern Bakterienwachstum festgestellt wurde	
		in schwach alkal. Bouillon	in schwach alkal. Agar	mit Bouillon	mit Agar	mit Bouillon	mit Agar
XII	2	2	2	6	6	3	6
XIII	6	6	6	10	10	10	10
XIV	6	6	6	10	10	8	10
XV	6	6	6	10	10	10	10
XVI	6	6	6	5	5	4	5

Wenn wir diese Tabelle mit der vorangehenden (Tabelle I) vergleichen, so sehen wir, daß in einer mit Faeces infizierten Bouillon nach einem 24-stündigen Verbleiben derselben im Brutschrank bei einer Temperatur von 60–66° C eine hochgradige Zunahme der Quantität der thermophilen Bakterien stattfindet.

Diese Tatsache findet auch ihre Bestätigung, wenn man die Zahl der Kolonien in den mit der Faecesemulsion unmittelbar nach ihrer Herstellung angelegten Kulturen mit der Zahl der Kolonien in den mit derselben Faecesemulsion, nachdem sie aber im Brutschrank bei einer Temperatur von 60–66° C gestanden hat, angelegten Kulturen vergleicht. Dies geht aus der Tabelle III (p. 428) hervor.

Wir sehen also, daß die Zahl der Kolonien, die sich in den mit den Faecesemulsionen, die im Brutschrank bei 60–66° C gestanden haben, angelegten Kulturen entwickeln, keineswegs als Maßstab der wirklichen Quantität der in den Faeces enthaltenen thermophilen Bakterien dienen kann.

Es war von Interesse, festzustellen, ob nicht auch wässrige Faecesaufgüsse ein günstiges Nährmedium für die thermophilen Bakterien abgeben.

Tabelle III.

Anzahl der Kolonien der thermophilen Bakterien in den auf Agar unmittelbar nach der Herstellung der Bouillonemulsion<sup>1)</sup>, sowie nach 24-stündigem Verweilen dieser Emulsion bei 60—66° C im Brutschrank angelegten Kulturen.

Reihenfolge der Beobachtungen	Anzahl der Kolonien in den unmittelbar nach der Herstellung der Bouillonemulsion gegossenen Platten	Anzahl der Kolonien in den nach 24-stündigem Verweilen derselben Emulsion bei 60—66° C gegossenen Platten
I	0	1415
II	0	2240
III	0	480
IV	0	2538

Um diese Frage zu eruieren, stellte ich wässrige Faecesaufgüsse von 0,5—3-proz. Konzentration (nach Gewicht) folgendermaßen her: In einen Kolben mit 100 ccm Wasser wurden 0,5—3,0 g Faeces gebracht, worauf der Kolben für die Dauer von einer halben Stunde auf ein Wasserbad gestellt wurde; der auf diese Weise gewonnene Aufguß wurde durch einen Papierfilter filtriert. Von dem Filtrat, welches eine leicht trübe, hellbraune Flüssigkeit darstellte, wurden je 10 ccm in Reagenzgläschen gebracht und bei 120° C im Papinschen Topf sterilisiert. Diese Reagenzgläschen wurden nun nicht unmittelbar mit den Faeces, sondern wie im vorangehenden Falle mit einer dichten Emulsion infiziert, die 2,5 g Faeces auf 10 ccm Wasser enthielt. Von dieser Emulsion wurden in jedes Reagenzgläschen je 6 Oesen überimpft; hierauf wurden die Reagenzgläschen für die Dauer von 24 oder 48 Stunden in den auf 62—63° C eingestellten Brutschrank gebracht. Hierauf wurden von diesem Material je 6 Oesen in Reagenzgläschen mit schwach alkalischer Bouillon, sowie auf schräg gegossenen, schwach alkalischen Agar überimpft; die auf diese Weise angelegten Kulturen kamen gleichfalls in den Brutschrank bei 62—63° C. Die Resultate dieser Experimente sind:

Beobachtung No. 17. In 6 Reagenzgläschen mit je 10 ccm filtriertem und sterilisiertem 3-proz. Faecesaufguß wurden je 6 Oesen von einer 25-proz. Faecesemulsion gebracht. Nachdem die auf diese Weise beschickten Reagenzgläschen bei einer Temperatur von 62° C 2 Tage im Brutschrank geweilt hatten, wurden von dem Inhalt derselben je 6 Oesen in Reagenzgläschen mit schwach alkalischer Bouillon und in solche mit schräg ausgegossenem, schwach alkalischem Agar überimpft. Nach 20-stündigem Verweilen bei 62° C zeigte sich in 4 von den 6 Bouillon- und in 5 von den 6 Agar-Reagenzgläschen Entwicklung von thermophilen Bakterien. Die übrigen Kulturen blieben 3 Tage lang bei einer Temperatur von 61—63° C steril.

Beobachtung No. 18. In 8 Reagenzgläschen mit je 10 ccm sterilisiertem 0,5-proz. Faecesaufguß wurden je 6 Oesen von einer 25-proz. Faecesemulsion gebracht; nach einem 24-stündigen Verweilen der Reagenzgläschen im Brutschrank bei 61° C wurden von dem Inhalt derselben je 6 Oesen in Reagenzgläschen mit schwach alkalischer Bouillon und in solche mit schräg ausgegossenem, schwach alkalischem Agar überimpft. Nachdem die auf diese Weise angelegten Kulturen

1) Da in den Faeces schlecht gekaute und unverdaute größere Partikelchen vorhanden sein konnten, die bei der Uebertragung der Faeces mit der Oese bedeutende Schwankungen in den Resultaten hätten geben können, so wurden, um Irrtümer zu vermeiden, in die Bouillon nicht die Faeces per se, sondern eine Faecesemulsion aus 2,5 g Faeces und 10 ccm sterilisierten Wassers übertragen.

24 Stunden bei einer Temperatur von 61–62° C im Brutschrank verblieben waren, zeigte sich in 6 von den 8 Bouillon- und in 7 von den 8 Agar-Reagenzgläsern Entwicklung von thermophilen Bakterien; die übrigen Reagenzgläsern blieben 4 Tage lang bei einer Temperatur von 61–63° C steril.

Beobachtung No. 19. Versuchsanordnung wie in den vorangehenden Fällen, mit dem Unterschiede jedoch, daß Abimpfungen von dem Aufgusse in 5 Reagenzgläsern mit Bouillon und in 5 mit Agar gemacht wurden. Nach einem 20-stündigen Verweilen der Reagenzgläsern im Brutschrank bei 62° zeigte sich Bakterienwachstum in sämtlichen 5 Bouillon- und 5 Agar-Reagenzgläsern.

Die Resultate der vorstehenden Beobachtungen lassen sich folgendermaßen tabellarisch zusammenstellen:

Tabelle IV.

Resultate bei der Infektion der Nährmedien mit nicht dichten Emulsionen von Faecesaufguß nach 1–2-tägigem Verweilen dieser Emulsion bei 61–63° C.

Reihenfolge der Beobachtungen	Die zur Herstellung des Aufgusses in Gewichtsprozenten verwendete Faecesmenge	Anzahl der Reagenzgläsern, in welche vom Aufguß abgeimpft wurde		Anzahl der Reagenzgläsern, in denen Bakterienwachstum festgestellt wurde	
		mit schwach alkal. Bouillon	mit schwach alkal. Agar	mit schwach alkal. Bouillon	mit schwach alkal. Agar
XVII	3 Proz.	6	6	4	5
XVIII	0,5 „	8	8	6	7
XIX	0,5 „	5	5	5	5

Aus dieser Tabelle ersehen wir, das sich selbst in 0,5-proz. Faecesaufguß nach 24 Stunden die thermophilen Bakterien dermaßen vermehrt haben, daß man in der Mehrzahl der Abimpfungen deren Entwicklung beobachten konnte.

Noch frappantere Befunde wurden bei der Zählung der Kolonien in den Kulturen, die mit dem soeben infizierten Aufguß und in denjenigen, die mit demselben Aufguß nach einem 24-stündigen Verweilen desselben im Brutschrank bei 61–63° C angelegt waren, erzielt. Ich bediente mich zu diesem Zwecke eines 0,5-proz. Faecesaufgusses, den ich, wie im vorstehenden Falle, mit 6 Oesen Stoff infizierte, den ich einer Emulsion, die 2,5 g Faeces auf 10 ccm Wasser enthielt, entnahm. Behufs Anlegung von Kulturen wurden in die ersten Verdünnungen vom Aufguß je 6 Oesen überimpft. Die Kulturen wurden in den auf 61–63° C eingestellten Brutschrank gebracht und nach Ablauf von 24 Stunden in denselben die Kolonien gezählt. Das Resultat dieser Zählungen ist aus folgender Tabelle zu ersehen:

Tabelle V.

Anzahl der Kolonien thermophiler Bakterien in Agarplatten, welche unmittelbar nach Infektion des Faecesaufgusses und nach 24-stündigem Verweilen desselben bei 61–63° C angesetzt wurden.

Reihenfolge der Beobachtungen	Anzahl der Kolonien in den unmittelbar nach der Infektion des Aufgusses gegossenen Platten	Anzahl der Kolonien in den Platten, welche nach 24-stündigem Verweilen desselben Aufgusses bei 61–63° C gegossen wurden
I	0	1736
II	0	8940
III	0	3418

Diese Befunde erweckten die Vermutung, ob nicht schon gewöhnliches Wasser an und für sich ein günstiges Medium für die Vermehrung der thermophilen Bakterien ist.

Um dieser Frage näher zu treten, habe ich eine Reihe von Beobachtungen vorgenommen, die folgendermaßen angeordnet waren: In Reagenzgläsern, welche 6—8 ccm sterilisierten Wassers enthielten, emulgierte ich Faeces<sup>1)</sup> in einer Quantität von je 6 Oesen pro Reagenzgläsern; nach einem 20—24-stündigen Verweilen dieser Reagenzgläsern im auf 64—66° C eingestellten Brutschrank wurden von dem Inhalt derselben je 6 Oesen in Reagenzgläsern mit schwach alkalischer Bouillon und in solche mit schräg ausgegossenem, schwach alkalischem Agar abgeimpft, worauf die Reagenzgläsern in den Brutschrank bei 64—66° C gebracht wurden. Die Resultate dieser Versuchsreihe sind:

Beobachtung No. 20. In 10 Reagenzgläsern, welche sterilisiertes Wasser enthielten, wurden je 6 Oesen Faeces emulgiert. Nach 24-stündigem Verweilen dieser Reagenzgläsern im Brutschrank bei 65° C wurden aus jedem einzelnen Reagenzgläsern je 6 Oesen in ein Reagenzgläsern mit schwach alkalischer Bouillon und in ein Reagenzgläsern mit schräg ausgegossenem, schwach alkalischem Agar überimpft. Nach einem 24-stündigen Verweilen der auf diese Weise beschickten Reagenzgläsern im Brutschrank bei 64° C zeigten 9 Bouillon- und sämtliche 10 Agar-Reagenzgläsern Entwicklung von thermophilen Bakterien, während das eine Bouillon-Reagenzgläsern 3 Tage lang bei 63—66° C steril blieb.

Beobachtung No. 21. Versuchsanordnung wie im vorstehenden Falle. Nach 24-stündigem Verweilen der beschickten Bouillon- und Agar-Reagenzgläsern im Brutschrank bei 64° C war in sämtlichen 10 Bouillon- und in sämtlichen 10 Agar-Reagenzgläsern Entwicklung von thermophilen Bakterien zu sehen.

Beobachtung No. 22. Versuchsanordnung wie im vorstehenden Falle. Nach 24-stündigem Verweilen der beschickten Reagenzgläsern bei 64° C war auch diesmal in sämtlichen 10 Bouillon- und in sämtlichen 10 Agar-Reagenzgläsern Entwicklung von thermophilen Bakterien zu sehen.

Beobachtung No. 23. Versuchsanordnung wie in den vorstehenden Fällen, mit dem Unterschiede jedoch, daß die Abimpfungen nur in 5 Reagenzgläsern mit Bouillon und in 5 mit schräg ausgegossenem Agar gemacht wurden. Nach 24-stündigem Verweilen der beschickten Reagenzgläsern im Brutschrank bei 66° C zeigte sich in 4 Bouillon- und in sämtlichen 5 Agar-Reagenzgläsern Entwicklung von thermophilen Bakterien. Das eine Bouillon-Reagenzgläsern blieb 2 Tage lang bei 64—65° steril.

Die Resultate der vorstehenden Serie von Beobachtungen sind in Tabelle VI (p. 431) zusammengestellt.

Aus dieser Tabelle ersehen wir, daß sich thermophile Bakterien auch in gewöhnlichem Wasser bei 64—65° C entwickeln können.

Dieser Schluß wurde, wie in den Experimenten mit dem Faeces-aufguß, durch Anlegung von Plattenkulturen einer Prüfung unterzogen. Zu diesem Zwecke wurden in ein Reagenzgläsern, welches 10 ccm sterilisierten Wassers enthielt, 2,5 g Faeces gebracht und nach sorgfältigem Schütteln des Inhaltes von demselben je 6 Oesen in Reagenz-

1) Diesmal nahm ich Faeces per se und nicht in Emulsion.

Tabelle VI.

Resultate bei der Infektion der Nährmedien mit wässriger Faecesemulsion nach 24-stündigem Verweilen derselben bei 63–66° C.

Reihenfolge der Beobachtungen	Anzahl der Reagenzgläser, in welche von der wässrigen Emulsion abgeimpft wurde		Anzahl der Reagenzgläser, in denen Bakterienwachstum konstatiert wurde	
	mit schwach alkal. Bouillon	mit schwach alkal. Agar	mit schwach alkal. Bouillon	mit schwach alkal. Agar
XX	10	10	9	10
XXI	10	10	10	10
XXII	10	10	10	10
XXIII	5	5	4	5

gläsern mit 10 ccm sterilisierten Wassers abgegossen; aus diesen letzteren Reagenzgläsern wurden zunächst sofort, dann nach einem 24-stündigen Verweilen derselben bei 61–63° C auf schwach alkalischem Agar Platten gegossen, wobei jedesmal in die erste Verdünnung je 6 Oesen von den Reagenzgläsern, die Wasser enthielten, gebracht wurden. Die auf diese Weise angelegten Kulturen wurden in den auf 61–63° C eingestellten Brutschrank gebracht und nach 24 Stunden die in denselben gewachsenen Kolonien gezählt.

Die erzielten Resultate sind aus folgender Tabelle zu ersehen:

Tabelle VII.

Anzahl der Kolonien thermophiler Bakterien in den unmittelbar nach Infektion des Wassers und nach 24-stündigem Verweilen desselben bei 61–63° C auf Agar gegossenen Platten.

Reihenfolge der Beobachtungen	Anzahl der Kolonien in den unmittelbar nach der Infektion des Wassers gegossenen Platten	Anzahl der Kolonien in den nach 24-stündigem Verweilen des Wassers bei 61–63° C gegossenen Platten
I	0	460
II	0	550
III	1	9860
IV	0	1830

Aus den vorstehenden Beobachtungen ergibt sich somit, daß mit geringen Faecesquantitäten infizierte Nährmedien nur in seltenen Fällen Entwicklung von thermophilen Bakterien zeigen.

Um mir von der Quantität dieser Bakterien in den Faeces eine Vorstellung zu machen, habe ich folgende Versuche angestellt: In Reagenzgläsern, welche 10 ccm sterilisierten Wassers enthielten, wurden 0,2, 0,5, 1,0 und 2,0 g Faeces gebracht, mit dem Wasser sorgfältig geschüttelt und hierauf aus der Mischung je 6 Oesen in Reagenzgläsern mit schwach alkalischem, schräg ausgegossenem Agar überimpft, die in den auf 61–63° C eingestellten Brutschrank gebracht wurden.

Die Resultate dieser Beobachtungen sind in der Tabelle VIII (p. 432) zusammengestellt.

Aus dieser Tabelle ersehen wir, daß die größte Anzahl positiv ausgefallener Abimpfungen nur dann beobachtet wurde, wenn die Infektion mit außerordentlich dichten Faecesemulsionen (mindestens mit Emulsionen, die dem Gewichte nach 20 Proz. Faeces enthielten) vorgenommen wurde. Diese Tatsache weist darauf hin, daß die thermophilen Bakterien in den Faeces in relativ außerordentlich geringer Quantität vorkommen,



Tabelle VIII.

Wachstumsresultate in den Abimpfungen von wässerigen Faecesemulsionen mit verschiedenem Faeces-Prozentgehalt.

Reihenfolge der Beobachtungen	Prozentgehalt der Faeces im Wasser (nach dem Gewicht)	Anzahl der mit der Emulsion infizierten Agar-Reagenzgläschen	Anzahl der Reagenzgläschen, in denen Wachstum konstatiert wurde
I	5 Proz.	5	0
	10 "	5	2
	20 "	5	3
II	5 "	6	3
	10 "	6	6
	20 "	6	6
III	2 "	5	1
	5 "	5	1
	10 "	5	2
	20 "	5	4
IV	5 "	5	2
	10 "	5	3
	20 "	5	5

und infolgedessen liegt gar keine Veranlassung zu der Annahme vor, daß die thermophilen Bakterien im Darm irgend eine Rolle spielen.

Zum Schluß ist es mir eine angenehme Pflicht, dem hochverehrten Herrn Dr. S. S. Mereshkowsky für die freundliche Anleitung, die er mir bei dieser Arbeit hat zu teil werden lassen, an dieser Stelle meinen aufrichtigen Dank zu sagen.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber eine durch schweineseucheähnliche Bacillen hervorgerufene Lungenerkrankung der Kaninchen.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Bonn.]

Von Privatdozent Dr. med. **Hugo Selter**, Assistenten des Institutes.

Im Januar 1904 ließ sich das Institut, um den Bestand zu erneuern, eine Anzahl Kaninchen aus dem bakteriologischen Laboratorium der Stadt Dortmund schicken. Diese Tiere waren nach der Ankunft anscheinend völlig munter und ließen keinerlei Krankheitserscheinungen erkennen. Nach 2-tägigem Aufenthalt in den Ställen des Institutes ging eins von den gesandten Kaninchen spontan ein. Bei der Sektion fand sich, daß die Lungen und der Herzbeutel mit einem zähen Eiter bedeckt und zum Teil mit der Pleura verklebt waren. In den Pleurahöhlen befand sich ein eitrig-seröses Exsudat. Die Lungen waren hart infiltriert und mit eitergefüllten Kavernen durchsetzt. Mikroskopisch zeigte sich in Schnittpräparaten eine Verdickung der Alveolarsepten mit geringem Fibrinaustritt, aber keine deutliche Exsudatbildung. Die Milz war nicht merklich vergrößert. In Ausstrichpräparaten aus dem Nasensekret, sowie aus dem Pleuraexsudat und dem Eiter auf den Lungen fanden sich massenhaft kleine, nach Gram nicht färbbare Stäbchen, weniger zahlreich in Lungenausstrichen. Nachzuweisen waren diese Stäbchen, wenn

auch spärlich, noch in der Milz und im Herzblut. Sie ließen sich aus dem Eiter auf Glycerinagarplatten bei 37° leicht züchten und zeigten folgendes morphologisches und kulturelles Verhalten:

Kleine, ca. 3—5  $\mu$  lange und 0,5  $\mu$  breite, unbewegliche, gram-negative Stäbchen, die, im hängenden Tropfen betrachtet, ziemlich stark lichtbrechend sind, als ob sie von einer dichten Schleimhülle umgeben wären. Stellt man das Mikroskop auf den Rand des Tropfens ein, so sieht man die Bacillen palisadenförmig aneinandergeordnet liegen, jedoch nicht ganz dicht aneinander, sondern stets mit einem fast gleichen Zwischenraum, wohl infolge der Schleimhülle. Das Bild ist ein sehr charakteristisches, so daß ich bei späteren Untersuchungen aus dieser Lagerung der Bacillen, wenn hängende Tropfen von Kolonien einer Agarplatte angelegt wurden, gleich die Diagnose stellen konnte. Ein ähnliches Bild hatte ich bei Hühnercholera- und Schweineseuchebacillen beobachtet.

Die Züchtung der hier gefundenen Bacillen gelingt leicht. Auf Glycerinagarplatten bei 37° ist nach 24 Stunden eine eigentümlich schleimige, im durchfallenden Licht bläulich schimmernde, aneinander hängende Auflagerung zu sehen. Die einzelnen Kolonien haben keine charakteristische Form, sie sind den Gonokokkenkolonien ähnlich. Auf schräg erstarrtem Agar wird ebenfalls eine schleimige, auf den Impfstich nicht beschränkte, fast durchsichtige Auflagerung gebildet. Das Wachstum ist vorwiegend aerob und bei 37° am günstigsten. Gelatine wird nicht verflüssigt. Auf Kartoffeln kein Wachstum, im Traubenzuckeragarstich nur im oberen Drittel. Säure und Gas wird nicht gebildet, Milch nicht koaguliert. Bouillon wird gleichmäßig leicht getrübt. Die Bacillen sind für Mäuse und Kaninchen virulent, für Meerschweinchen nicht. Größere Mengen (1 ccm Bouillonkultur) verursachen bei Kaninchen, intraperitoneal injiziert, eine Septikämie und Tod nach 2—4 Tagen. Kleinere Mengen (ein kleines Stückchen von der Milz einer infizierten Maus) subkutan beigebracht, riefen die typische Lungenerkrankung hervor (Tod nach 7—10 Tagen). Merkwürdig war, daß bei den eingegangenen Mäusen die Bakterien in Lungenausstrichen und im Herzblut sehr zahlreich waren, während sie in Milzausstrichen nur spärlich gefunden wurden.

Ihrem morphologischen und kulturellen Verhalten nach haben die gefundenen Bacillen am meisten Ähnlichkeit mit der Gruppe der Hühnercholera-bacillen und den Bakterien der deutschen Schweineseuche, vielleicht sind sie überhaupt mit letzteren identisch. Ich werde unten noch hierauf zurückkommen.

Nach 3 Wochen ging ein weiteres Tier aus dem vorerwähnten Bestande ein mit denselben Krankheitserscheinungen. Im Laufe der nächsten Wochen starben dann in kurzen Zwischenräumen sämtliche aus Dortmund bezogenen Kaninchen, im ganzen 12. Teilweise waren sie mit Ruhrbacillen und Ruhrgift geimpft worden. Die Tiere saßen still in ihren Ställen und fraßen nur wenig, machten überhaupt einen sehr kranken Eindruck. Der Sektionsbefund war bei allen Tieren ziemlich derselbe; vorwiegend eine Erkrankung der Lungen und der serösen Häute, hervorgerufen durch die gleichen Bacillen. Bei den letzten Tieren waren wir noch auf ein Krankheitssymptom aufmerksam geworden, welches wir bei dem ersten Tier übersehen hatten. Die Tiere zeigten durchweg eine Erkrankung der Nasenschleimhaut, die ein eitrig-seröses Sekret absonderte, so daß die Haare zwischen Nase und Schnauze verklebt

waren. In diesem Nasensekret fanden sich reichlich die beschriebenen Bacillen. Diese Nasenerkrankung wurde auch bei Tieren konstatiert, die sonst noch keine Krankheitssymptome aufwiesen und auch erst nach Wochen eingingen. Es lag auf der Hand, hier das Initialstadium der Erkrankung und die Eintrittspforte für die Bakterien zu suchen. Letztere konnten vom Nasenrachenraum entweder direkt in die Lungen kommen, oder die Entzündung ging von der Nasenschleimhaut auf die serösen Häute des Brustraumes über und befiel nachträglich die Lungen. Hierfür spricht die eitrige Perikarditis und Pleuritis und der eitrige Belag auf der ganzen Lunge.

Die Seuche beschränkte sich nicht nur auf die Dortmunder Tiere, sondern wurde bald auch auf die alten Kaninchen des Institutes übertragen. Eine Desinfektion der Ställe und Umsetzen der Tiere half anscheinend wenig. Im Sommer wurden neue Kaninchen aus der Umgebung bezogen, auch diese starben zum großen Teil, einzelne aber so früh, daß sie die Infektion sich kaum in den Institutsställen geholt haben konnten, zumal sie in sorgfältig gereinigte und von den übrigen getrennte Käfige kamen. Wir mußten demnach annehmen, daß diese Tiere schon vorher erkrankt waren, die Seuche also wahrscheinlich an mehreren Orten verbreitet war. Die verschiedenen Kaninchenzüchter gaben auch zu, daß ihnen schon öfter Tiere von selbst eingegangen waren und ähnliche Krankheitssymptome gezeigt hatten.

Leider konnten wir keins von diesen eingegangenen Tieren zur bakteriologischen Untersuchung bekommen. Die Seuche hielt über ein Jahr an und störte das experimentelle Arbeiten in hohem Maße; denn viele Tierexperimente mußten ausgeschaltet werden, da sich bei der Section eine Infektion durch die beschriebenen Bacillen fand.

Die Ähnlichkeit der gefundenen Bakterien mit den Bacillen der deutschen Schweineseuche veranlaßte mich, einen Versuch mit dem polyvalenten Schweineseucheserum von Ostertag und Wassermann zu machen. Ich impfte 2 Kaninchen mit je 1 ccm einer Bouillonkultur und 1 ccm Schweineseucheserum subkutan; die Tiere gingen an der Infektion zugrunde. Kurz darauf hatte ich eine bessere Gelegenheit, das Serum zu erproben. Eine Kaninchenmutter mit 6 Jungen zeigte etwa 14 Tage nach dem Werfen schwere Krankheitserscheinungen; die Jungen hatten schon etwas Ausfluß aus der Nase, waren aber sonst munter. Von diesen Tieren impfte ich die Mutter mit 2 ccm Serum und 3 von den 6 Jungen mit je 1 ccm Serum intravenös. Die Alte erholte sich wieder etwas, ging aber dann doch ein. Ebenso gingen die drei nicht geimpften Jungen an der Infektion ein, während die geimpften durchkamen. Es scheint also hier das Schweineseucheserum einen Schutz gegeben zu haben. Mehrere andere schon schwer erkrankte Tiere konnte ich nicht retten. Wir mußten demnach annehmen, daß das Serum nur bei anfangenden Erkrankungen einen wirksamen Schutz zu gewähren im stande sei. Um nun auch zu erproben, ob das Serum prophylaktisch zu verwerten sei, impfte ich alle Kaninchen des Institutes mit je 1 ccm Schweineseucheserum intravenös und erreichte in der Tat, daß die Seuche bald als erloschen betrachtet werden konnte.

Man wird also wohl auf Grund der mit dem Schweineseucheserum erzielten Heilerfolge mit Recht die hier gefundenen Bacillen zur Gruppe der Schweineseuchebacillen rechnen können.

Aehnliche Kaninchenseuchen werden von Beck<sup>1)</sup> und dann von Kraus<sup>2)</sup> und Volk<sup>3)</sup> beschrieben. Sie finden Bakterien, die mit den von mir isolierten der Beschreibung manche Aehnlichkeit haben, aber doch auch Abweichungen zeigen. Es lohnte sich wohl auch anderwärts bei ähnlichen Seuchen, mit der Serumtherapie Versuche zu machen.

*Nachdruck verboten.*

## Zur Kenntnis des Vaccineerregers.

[Aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin.  
(Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Gaffky. Abteilvorsteher:  
Prof. Dr. Frosch).]

Von Dr. **P. Mühlens** und Dr. phil. **M. Hartmann**  
Marinestabsarzt Privatdozent.

Mit 1 Tafel.

(Schluß.)

### II. Die intracellulären Vaccinekörperchen in der geimpften Kaninchenhornhaut.

Man hätte erwarten sollen, daß Siegel bezüglich der Guarnierischen Körperchen besonders eingehend deren Protozoennatur nachweisen würde, da doch die Spezifität derselben in pathologischem Sinne heutzutage wohl kaum mehr bezweifelt wird. Um so auffallender ist es, daß über diesen Punkt seine Angaben so kurz und wenig klar und präzise lauten. Besonders der Nachweis von Jugendformen in der Cornea, unserer Meinung nach das wichtigste Argument für eine Identifizierung mit seinen Gebilden aus dem Blut und den inneren Organen, fehlt vollkommen. Nur so viel geht aus seiner Darstellung mit Sicherheit hervor, daß er die bekannten Vaccinekörperchen (speziell die größeren Formen) für dieselben Protozoen (Sporulationsstadien) hält wie die Gebilde aus Blut und inneren Organen. Er hält das ganze Vaccinekörperchen genau wie die früheren Anhänger der Parasitennatur derselben für den protozoischen Parasiten. Was die früheren Autoren abgebildet haben, seien allerdings nichts als diffuse Plasmabilder gewesen, während die eigentlichen Kerne als weiße Punkte wie Vakuolen daliegen. „Daß es mir gelungen ist“, sagt Siegel (38), „die Natur der bei Vaccine schon immer gesehenen, aber mit Sicherheit nicht von Degenerationsprodukten unterschiedenen Guarnierischen Körperchen als Protozoen aufzuklären, schreibe ich hauptsächlich der Benutzung des für diese Untersuchungen geradezu unentbehrlichen Azurfarbstoffes zu.“ Nun hat er aber die Corneanschnitte ebenso wie die älteren Untersucher (Hückel) auch nur mit Eisenhämatoxylin färben können, wo es nach ihm doch nur negative Kernbilder gibt. Wie er nun bewiesen haben will, daß die Vaccinekörperchen Protoplasmakugeln mit einer Anzahl Kerne (Sporulationskugeln) sind, ist nicht einzusehen. (Hier sei an die obigen

1) Der Bacillus der Brustseuche bei Kaninchen. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XV.)

2) Ueber den Erreger einer influenzzähnlichen Kaninchenseuche. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXIV.)

3) Ueber eine Kaninchenseuche. (Centralbl. f. Bakt. u. s. w. Abt. I. Bd. XXXI. No. 5.)

Ausführungen bezüglich der Kriterien für Plasma und Kern erinnert p. 338). Statt für die Protozoennatur dieser für die Vaccine spezifischen Körperchen einen eingehenden Nachweis zu versuchen und daraufhin durch Vergleich mit den Blut- und Organbefunden eventuell Schlüsse auf diese zu ziehen, macht er es gerade umgekehrt und sucht aus seinen Organbefunden, deren Spezifität nicht erwiesen ist, die Protozoennatur der Vaccinekörperchen zu beweisen, wobei aber auch deren Identität mit seinen Körperchen noch nicht bewiesen ist. Dabei kann von einem eingehenden Vergleich nicht die Rede sein. Denn die Erklärung der außerordentlich mannigfaltigen Verzerrungen der Vaccinekörperchen als verschieden geführte Schnitte durch ähnliche Gebilde, wie die von ihm in den Organaustrichen beschriebenen, kann nicht ausreichend sein, ja ist für viele direkt ausgeschlossen. Aus seinen tatsächlichen Beobachtungen geht aber ebensowenig wie aus denen seiner Vorgänger hervor, daß die Vaccinekörper nicht Degenerationsprodukte von Zellen oder Kernen, sondern wohlcharakterisierte Parasiten vorstellen.

Was unsere eigenen Untersuchungen über die Guarnierischen Körperchen anlangt, so sind wir zu Resultaten gelangt, die sich sowohl bezüglich der tatsächlichen Befunde wie der Deutung zum Teil mit den kürzlich von Süpfle (49) und besonders von Prowazek (32) berichteten decken. Wir können daher auf eine eingehende Darstellung derselben verzichten und uns unter Hinweis auf die Arbeiten dieser beiden Forscher kurz fassen. Dasselbst finden sich auch die Gründe gegen die Parasitennatur zusammengestellt, die, wie schon ausgeführt, auch durch die Siegelschen Mitteilungen keine Aenderung erfahren.

Beide Forscher kamen zu dem Schluß, daß den bekannten Vaccinekörperchen nicht die Rolle eines Parasiten und Erregers zuerkannt werden kann. Es handelt sich vielmehr um Degenerationsprodukte, allerdings um solche, die eine typische Reaktion auf das Virus der Vaccine darstellen. Beide bringen diese Degenerationsprodukte in Beziehung zum Kern resp. den Kernsubstanzen. Bei Prowazek findet sich diese Auffassung besonders eingehend begründet und genauer ausgeführt. Diese Erklärung der Guarnierischen Körperchen, besonders in der v. Prowazekschen Fassung, erscheint auch uns zur Zeit als die beste. Sie entstammen danach den sogenannten Kernsubstanzen und bestehen ihrer Genese nach aus einer plastinartigen und chromatischen Substanz. Offenbar treten sie sehr frühzeitig und rasch ins Protoplasma und wachsen hier als Gebilde vom Typus der „nackten Körperchen“ (Hückel) (20) weiter. Sie sind also Produkte einer regressiven Metamorphose der Kernsubstanzen.

Ohne hier nochmals auf alle Gründe für und wider diese Ansicht, die bei Prowazek (32) nachgelesen werden können, einzugehen, möchten wir nur darauf hinweisen, daß diese Ansicht in den modernen cellulären Beobachtungen und Experimenten über physiologische Chromidien (Hertwig [18, 19], Prowazek [32], Goldschmidt [15], Hartmann [17]) eine große Stütze hat. Dadurch fallen auch die meisten Einwände hinweg, die v. Wasielewsky (51) gegen die Erklärung der Vaccinekörperchen als Degenerationsprodukte angeführt hat.

Außer den Guarnierischen Körperchen hat nun Prowazek (32) Körperchen beschrieben, die von den ersteren ihrem Wesen und ihrer Genese nach verschieden sind, und die er „Initialkörper“ nennt. Vor ihm sind sie schon von Bosc und Gorini gesehen worden. „Sie

sind längliche, meist aus zwei ihrer Größe nach etwas differierenden Körperchen bestehende Gebilde, die von einem ovalen lichten Hof umgeben sind und sowohl im Protoplasma als auch wahrscheinlich im Kern auftreten. Später kann man einzelne Initialkörper auch in den Guarnierischen Körperchen nachweisen, während die anderen vom Kern räumlich getrennten Gebilde in der Zelle bleiben, sich hier anfangs vermehren und später klumpig degenerieren. Die Initialkörper dürften ihrem ganzen Aussehen und Verhalten nach wohl die Träger des Virus sein.“ Auch diese Befunde Prowazeks konnten wir bestätigen.

Wenn nun Siegel (46) neuerdings schreibt: „Die Formen der Parasiten in der geimpften Haut hat vor kurzem Prowazek bestätigen können“, so kann diese Fassung leicht zu dem Mißverständnis Anlaß geben, als hätte Prowazek die Befunde resp. Auffassungen von Siegel bestätigt. Siegel hat aber, wie aus der obigen Darstellung hervorgeht, nicht besondere Gebilde (Initialkörper) von den Guarnierischen Körpern unterschieden. Selbst wenn er sie gesehen hat, was aber weder aus seiner Darstellung noch aus seinen Abbildungen hervorgeht, dann hat er sie für die Kerne seiner *Cytorhyctes*-Parasiten gehalten. Nach Prowazek, dessen Auffassung auch wir teilen, sind aber die Initialkörper keineswegs an die bekannten Vaccinekörper gebunden, sondern kommen in der Regel neben ihnen im Protoplasma der Epithelzelle vor. Initialkörper und Guarnierische Körper sind eben vollständig verschiedene Gebilde, und es erscheint daher nicht nur berechtigt, sondern nach den Gepflogenheiten der Namengebung direkt geboten, dieselben nicht gleich den letzteren *Cytorhyctes* zu benennen, zumal ihre Parasitennatur von Prowazek nicht als erwiesen betrachtet wird. Da sie nur als die vermutlichen Träger des Virus angesehen werden und über ihr Wesen nichts ausgesagt werden kann, ist der vorsichtige Standpunkt v. Prowazeks, der von einer Namengebung in Anbetracht der geringen Kenntnisse überhaupt Abstand genommen und ihnen nur den indifferenten Ausdruck Initialkörper zugelegt hat, jedenfalls als das Richtige anzusehen.

Die Initialkörper zeigen allerdings eine gewisse Ähnlichkeit mit manchen Gebilden, die Siegel aus den Gewebsausstrichen der Kaninchen beschrieben und abgebildet hat. Da aber die Zusammengehörigkeit der Guarnierischen Körper (resp. Initialkörper) und der Siegelischen Gebilde aus dem Blut und den inneren Organen weder durch Beobachtungen noch durch Experimente erwiesen ist, die tatsächlichen Beobachtungen vielmehr vollkommen gegen einen solchen Zusammenhang sprechen, so kann aus der Formenähnlichkeit solch kleinster, an der Grenze des Sichtbaren stehender Gebilde doch nicht von einer Bestätigung der Siegelischen Parasiten die Rede sein.

### Zusammenfassung.

1) Experimentell konnte ein Kreisen des Vaccinevirus im Kaninchenkörper selbst bei verschiedenen Arten der Infektion mit großen Lymphdosen nicht nachgewiesen werden.

2) Für die von Siegel im Blut und den inneren Organen von Kaninchen als Erreger der Vaccine beschriebenen Gebilde ist weder der Beweis der Protozoennatur noch der Spezifität für die Vaccine erbracht. Von denselben nicht zu unterscheidende Gebilde finden sich nach unseren Untersuchungen auch im Blut von normalen Kaninchen. Sie sind als

Zerfallsprodukte von Körperzellen, namentlich von roten Blutkörperchen, aufzufassen.

3) Die von Siegel im Blut und den Organsäften beschriebenen Gebilde sind nicht identisch mit den bekannten Guarnierischen Körperchen in der geimpften Kaninchenhornhaut.

4) Für die von Bonhoff bei Vaccine beschriebenen Spirochäten ist der Nachweis der Spirochätennatur nicht erbracht. Wahrscheinlich handelt es sich bei denselben um Kunstprodukte. — Nach unseren Untersuchungen erscheint das Vorkommen von Spirochäten in ätiologischer Beziehung zur Vaccine unwahrscheinlich.

5) Die Guarnierischen Körperchen sind Produkte einer regressiven Metamorphose der Kernsubstanzen der Epithelzellen.

6) Die „Initialkörper“ v. Prowazeks können nicht als identisch mit dem Siegelschen „*Cytorhyctes*“ angesehen werden.

7) Vielleicht stellen die „Initialkörper“ den Träger des Virus dar.

#### Literaturverzeichnis.

- 1) Arnold, J., Zur Morphologie und Biologie der roten Blutkörperchen. (Virchows Archiv. Bd. CXLV. 1896.)
- 2) — —, Zur Biologie der roten Blutkörperchen. (Münch. med. Wochenschr. 1896. No. 18.)
- 3) — —, Zur Technik der Blutuntersuchung. (Centralbl. f. allgem. Pathol. u. pathol. Anat. 1896. No. 17.)
- 4) — —, Zur Morphologie der intravaskulären Gerinnung und Pfropfbildung. (Virchows Archiv. Bd. CLV. 1899.)
- 5) Bonhoff, Studien über den Vaccineerreger. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. 1903.)
- 6) — —, Studien über den Vaccineerreger. (Sitzungsber. der Gesellsch. zur Beförderung der ges. Naturwissensch. Marburg. 1905. No. 4.)
- 7) Boveri, Th., Zellenstudien. Heft 4. Jena 1901.
- 8) Calmette et Guérin, Recherches sur la vaccine expérimentale. (Annal. de l'Inst. Pasteur. 1901. p. 161.)
- 9) Carini, A., Sind die Vaccineerreger Spirochäten? (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX. 1905.)
- 10) Doehle, P., Zur Ätiologie von Masern, Pocken, Scharlach, Syphilis. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XII. 1892.)
- 11) — —, Ueber Blutbefunde bei Syphilis, Masern und Pocken. (Med. Klinik. 1905. No. 24.)
- 12) Dombrowski, Untersuchungen über das Kontagium der Pocken. (Zeitschr. f. klin. Med. Bd. XLVI. 1902.)
- 13) Fischer, A., Fixierung, Färbung und Bau des Protoplasmas. Jena 1899.
- 14) Freund, Ueber Cytorhyctes luis Siegel. (Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 38.)
- 15) Goldschmidt, R., Der Chromidialapparat lebhaft funktionierender Gewebszellen. (Zool. Jahrb. Bd. XXI. 1904.)
- 16) Haaland, Ueber Lungenveränderungen nach intrapulmonaler Injektion von Vaccine-lymphe, nebst Bemerkungen über den behaupteten Nachweis des Vaccinevirus in inneren Organen. (Med. Klinik. 1905. No. 42.)
- 17) Hartmann, M., Vorläufige Mitteilung über den Generationswechsel der Dicymiden. (Biol. Centralbl. 1904.)
- 18) Hertwig, R., Die Protozoen und die Zelltheorie. (Arch. f. Protistenkunde. Bd. I. 1902.)
- 19) — —, Ueber physiologische Degeneration bei Actinosphaerium eichhorni. (Festschrift für E. Haeckel. Jena 1904.)
- 20) Hückel, Die Vaccinekörperchen. (Zieglers Beitr. z. pathol. Anat. 1898. II. Supplementheft.)
- 21) Jancke, Ueber Cytorhyctenbefunde. (Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 45.)
- 22) Jürgens, Die ätiologische Bedeutung der Pockendiagnose. (Deutsche med. Wochenschrift. 1904.)
- 23) Justus, J., Ueber die durch Syphilis bedingten Blutveränderungen im Hinblick auf ihre diagnostische und therapeutische Bedeutung. (Virchows Archiv. Bd. CXLVIII.)
- 24) Kahane, M., Ueber das Vorkommen lebender Parasiten im Blute und in Geschwulstzellen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XV. 1894.)

- 25) Kollmann, Ueber Pseudomikroben des normalen menschlichen Blutes. (Verhandl. X. internat. Kongreß. Berlin. 1891. Bd. II. Abt. V.)
- 26) Losdorffer, Sitzungsberichte der k. k. Gesellschaft der Aerzte in Wien. (Wien. klin. Wochenschr. 1900. No. 18.)
- 27) Magrath und Brinckerhoff, The infectiousness of the blood in variola. (Journ. of Med. Research. 1904.)
- 28) Merk, Ueber Cytoryktes Luis (Siegel). (Wien. klin. Wochenschr. 1905. No. 36.)
- 29) Müller, H. F., Ueber einen bisher nicht beobachteten Formbestandteil des Blutes. (Centralbl. f. allg. Pathol. u. pathol. Anat. 1896. No. 13.)
- 30) Neisser, Versuche zur Uebertragung von Syphilis auf Affen. (Deutsche med. Wochenschr. 1906. No. 1, 2, 3.)
- 31) v. Prowazek, S., Untersuchungen über einige parasitische Flagellaten. (Arb. aus kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. XXI. 1904.)
- 32) —, Untersuchungen über die Vaccine. (Ebenda. Bd. XXII. 1905.)
- 33) Schaudinn, F., Befruchtung der Protozoen. (Verhandl. der deutsch. Zool. Gesellschaft. 1905.)
- 34) Schulze, F. E., *Cytorhyctes luis* Siegel. (Berl. klin. Wochenschr. 1905. No. 21.)
- 35) Schultze, M., Ein heizbarer Objektisch und seine Verwendung zur Untersuchung des Blutes. (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. I.)
- 36) Siegel, J., Untersuchungen über die Aetiologie der akuten Exantheme. (Deutsche med. Wochenschr. 1900. p. 310.)
- 37) —, Beiträge zur Kenntnis des Vaccineerregers. (Sitzungsber. der Preuß. Akad. der Wissensch. Bd. XXX. 1904.)
- 38) —, Untersuchungen über die Aetiologie der Pocken und Maul- und Klauenseuche. (Anhang zu den Abhandl. der Preuß. Akad. der Wissensch. 1905.)
- 39) —, Zur Aetiologie des Scharlachs. (Med. Klinik. 1905. No. 2.)
- 40) —, Untersuchungen über die Aetiologie des Scharlachs. (Anhang zu den Abhandl. der Preuß. Akad. der Wissensch. 1905.)
- 41) —, Zur Aetiologie der Syphilis. (Med. Klinik. 1905. No. 4.)
- 42) —, Untersuchungen über die Aetiologie der Syphilis. (Anhang zu den Abhandl. der Preuß. Akad. der Wiss. 1905.)
- 43) —, Untersuchungen über die Aetiologie der Pocken, der Maul- und Klauenseuche, des Scharlachs und der Syphilis. (Med. Klinik. 1905. No. 18.)
- 44) —, Neue Untersuchungen über die Aetiologie der Syphilis. (Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 28 u. 29.)
- 45) —, Bericht über gelungene Uebertragung der Maul- und Klauenseuche auf Kaninchen, nebst ergänzenden Bemerkungen über die Beobachtungs- und Färbemethoden der gesamten Cytorhyctesgattung. (Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 33.)
- 46) —, Kurze Mitteilung über *Cytorhyctes variolae* (vaccinae). (Sitzungsber. Gesellsch. naturforsch. Freunde. 1905. No. 8/9.)
- 47) —, Weitere Untersuchungen über die Aetiologie der Syphilis. (Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 2.)
- 48) Stassano, Sur un parasite, observé chez des syphilitiques. (Compt. rend. Acad. Paris. 1901. p. 800.)
- 49) Süpfle, K., Beiträge zur Kenntnis der Vaccinekörperchen. Heidelberg (Winter) 1905.
- 50) De Waele und Sugg, Experimentelle Untersuchungen über die Kuhpockenlymphe. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX. Heft 1 u. 2.)
- 51) v. Wasielewski, Beiträge zur Kenntnis des Vaccineerregers. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXXVIII. 1901.)
- 52) —, Ueber die Technik des Guarnierischen Impffexperiments und seine Verwendung zum Nachweis von Vaccineergern in den geimpften Organen von Impftieren. (Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 25.)

#### Tafelerklärung.

Sämtliche Abbildungen sind bei Zeiss Apochromat, Obj. 2 mm und Kompens.-Okular 18 mit dem Abbeschen Zeichenapparat entworfen. Vergr. 2250. Mit Ausnahme von Fig. 25 stammen sämtliche Abbildungen aus Blut- oder Nieren- und Lebersaftpräparaten von Kaninchen.

Fig. 1a u. b. Zwei Zustände eines Gebildes mit sogenannter Geißel aus Blut eines geimpften Tieres nach dem Leben.

Fig. 2—5. Zerfallsprodukte aus normalem Blut mit sogenannten Geißeln und glänzenden Körnern nach dem Leben.

Fig. 6. Hantelform aus geimpften Tieren nach dem Leben.



Fig. 7 u. 8. Zerfallsprodukte mit sogenannten Geißeln aus normaler Niere. Giemsa-Färbung nach Siegel (44).

Fig. 9 u. 10. Spirochätenartige Gebilde aus geimpften (Blut Fig. 9) und normalen (Milz Fig. 10) Tieren. Giemsa-Färbung.

Fig. 11–14. Parasiten nach Siegel mit sogenannten Kernbildern aus geimpften Tieren (Fig. 11 Blut, 4. Tag, Boraxmethylenblau; Fig. 12 Niere, 5. Tag, Hämatoxylinazur; Fig. 13 Blut, 5. Tag, Sodamethylenblau; Fig. 14 Niere, 6. Tag, Boraxmethylenblau).

Fig. 15–25. Ähnliche Bilder aus normalen Tieren: Fig. 15 Blut, Boraxmethylenblau; Fig. 16 Niere, Hämatoxylinazur; Fig. 17 Niere und Fig. 18 Blut, Boraxmethylenblau; Fig. 19 Niere, Hämatoxylinazur; Fig. 20 u. 21 Filtrat, Boraxmethylenblau; Fig. 22 u. 24 Leber, Giemsa-Färbung nach Siegel; Fig. 23 Blut, Boraxmethylenblau; Fig. 25 Blut, Pestmaus, Boraxmethylenblau.

Fig. 26. Niere, geimpftes Kaninchen, Boraxmethylenblau.

Nachdruck verboten.

## Die Hymenolepis-Arten der Vögel.

Von Dr. O. Fuhrmann, Académie Neuchâtel.

Mit 39 Figuren.

(Schluß.)

### *Hymenolepis pellucida* n. sp.

Fig. 12 und 13.

Wirt: *Ostinops decumanus* (Tall), *Ostinops viridis* (Müll.) *Gymnostinops yuracarium* d'Orb.

Geographische Verbreitung derselben: Panama, Guyana, Ecuador, Brasilien, Bolivia.

Fundort: Brasilien, Hofmuseum in Wien, Glas No. 465, 466 und 468.

Diese Art des Genus *Hymenolepis* fand sich in stark macerierten zahlreichen Individuen in den drei obgenannten Vogelarten. Sie wird bis 12 cm lang und 1,2–1,5 mm breit. Der Skolex ist bewaffnet von zehn 0,032–0,034 mm langen Haken, deren Fußteil 0,027–0,028 mm breit ist.



Fig. 12.

Fig. 12. *H. pellucida* n. sp. Haken des Rostellums.

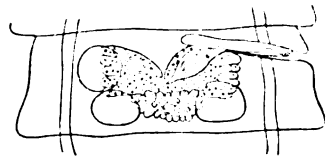


Fig. 13.

Fig. 13. *H. pellucida* n. sp. Totalpräparat.

Die männlichen Geschlechtsorgane bestehen in einem schlauchförmigen Penis, der 0,28 mm lang ist und deshalb weit ins Markparenchym reicht (Fig. 13). Die Genitalkloake mündet im zweiten Drittel des Gliedendes aus. Die Hoden liegen, 0,14 mm im Durchmesser messend, so verteilt, daß wie bei den vorhergehenden Arten auf der poralen Seite ein Hoden, auf der gegenüberliegenden zwei mehr oder weniger genau hintereinander liegende Testikel sich finden.

Die weiblichen Genitalien bestehen aus dem 0,28 mm breiten Keimstock und dem 0,12 mm breiten großen Dotterstock; beide sind tief ge-





lappt. Ueber dem einen Flügel des Ovariums liegt das spindelförmige Receptaculum seminis, dessen laterale Fortsetzung, die Vagina, hinter dem Cirrusbeutel in die Genitalkloake ausmündet. Der Uterus erfüllt das ganze Markparenchym sackförmig; er erscheint schon 3 cm hinter dem Skolex, aber seine Eier entwickeln sich langsam zu 0,03 mm messende Oncosphären. Die beiden äußeren Hüllen haben einen Durchmesser von 0,05 und 0,06 mm.

### *Hymenolepis uncinata* n. sp.

Fig. 14 und 15.

Wirt: *Rupicola crocea* Vieill.

Geographische Verbreitung desselben: Guyana, Amazonia.

Fundort: Brasilien, Hofmuseum in Wien, Glas No. 471.

*Hymenolepis uncinata* ist ein kleiner Cestode von 2—2,5 cm Länge und 0,5 mm Breite. Sein Skolex trägt 60 Haken von 0,023 mm Länge mit einem Fußteil von 0,019 mm.

Die männlichen Geschlechtsorgane bestehen aus drei großen (0,09 mm) Hoden, deren Disposition aus Fig. 1 ersichtlich ist. Der schlauchförmige Cirrusbeutel ist 0,1 mm lang, überschreitet aber kaum die Längsgefäße des Exkretionssystems. Die Hoden sind zuerst entwickelt, bleiben aber noch bestehen, wenn die weiblichen Geschlechtsdrüsen bereits ihre volle Reife haben. Das wenig gelappte Ovarium ist median und 0,2 mm breit, der Dotterstock 0,08 mm breit. Die Vagina zeigt ein wenig deutlich abgegrenztes Receptaculum seminis und mündet hinter dem Cirrus in die in der Mitte des Gliedendes gelegene Genitalkloake.

Der Uterus füllt das ganze Markparenchym aus und drängt die Exkretionsstämme stark seitlich. Die Oncosphären haben einen Durchmesser von 0,028 mm.



Fig. 14.

Fig. 14. *H. uncinata* n. sp. Haken des Rostellums.

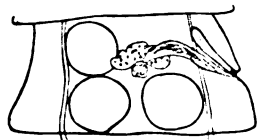


Fig. 15.

Fig. 15. *H. uncinata* n. sp. Totalpräparat, junges Glied.

### *Drepanidotaenia caprimulgorum* n. sp.

Fig. 16—19.

Wirte: *Nyctiprogne rupestris* (Spix), *Podager nacunda* Cab. und *Caprimulgus lineatus*<sup>1)</sup>.

Geographische Verbreitung derselben: Trop. Südamerika.

Fundort: Brasilien, Hofmuseum in Wien, Glas No. 441 u. 443. Museum für Naturkunde Berlin, Glas No. 2558.

Diese in Caprimulgiden gefundene Tänie wird bis 12 cm lang und 1,5 mm breit. Leider waren keine Haken vorhanden, obwohl dies wegen einiger anatomischer Eigentümlichkeiten sehr wünschenswert gewesen wäre. Da von dieser Art Schnitte angefertigt werden konnten, kann ich eine genauere Beschreibung der Muskulatur geben. Dieselbe besteht aus einer schwachen inneren Transversalmuskulatur, worauf nach außen sehr zahlreiche große Längsbündel folgen (0,04 mm im Durchmesser),

<sup>1)</sup> In Brasilien gesammelt, der Autor der betreffenden Vogelart konnte nicht festgestellt werden.

während außerhalb dieser eine Lage kleiner Längsmuskelbündel liegt. Dieselben zeigen einen Durchmesser von nur 0,004 mm und sind etwa dreimal so zahlreich als die inneren Bündel. Zu äußerst liegt dann eine sehr deutliche Lage von Diagonalmuskeln im Parenchym.

Auffallend entwickelt ist auch ein Ringmuskel am Hinterende jedes Gliedes, welcher von der inneren Transversalmuskulatur gebildet wird und auffallenderweise vor dem transversalen Quergefäße liegt.

Die männlichen Geschlechtsdrüsen sind in ihrer Lage ziemlich variabel, doch wiegt die in Fig. 17 a dargestellte gegenseitige Stellung derselben vor. Der Cirrusbeutel ist verhältnismäßig klein, da er die 0,19 mm vom Rande entfernten Exkretionsstämme nicht erreicht. Er ist schlauchförmig und 0,14 mm lang. Das Vas deferens bildet im Cirrusbeutel eine Vesicula seminis interna und sofort außerhalb desselben eine zweite etwa von der Größe des Cirrusbeutels. Die Vagina liegt hinter und unter dem Cirrusbeutel, sofort nach ihrem Eintritt ins Markparenchym bildet sie ein großes Receptaculum seminis.

Das ventral gelegene Ovarium ist, wie der Dotterstock, grob gelappt, ersterer 0,3 mm breit, letzterer 0,1 mm.

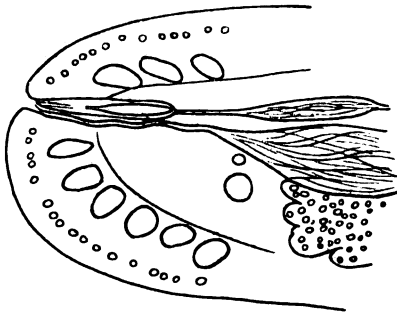


Fig. 16.

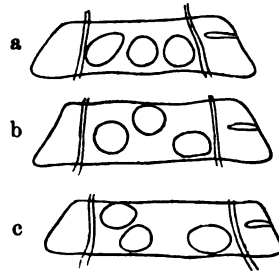


Fig. 17.

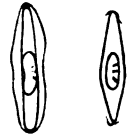


Fig. 18. Fig. 19.

- Fig. 16. *H. caprimulgorum* n. sp. Querschnitt.  
 Fig. 17. *H. caprimulgorum* n. sp. a, b, c variable Disposition der Hoden.  
 Fig. 18. *H. caprimulgorum* n. sp. Reifes Ei (Wiener Exemplar). -  
 Fig. 19. *H. caprimulgorum* n. sp. Noch nicht ganz reifes Ei (Berliner Exemplar).

Die Schalendrüse, die über dem Dotterstock liegt, ist auffallend groß, da sie fast das Maß des Dottersackes erreicht (0,08 mm). Ebenfalls bemerkenswert ist das frühe Auftreten des Uterus, der als querer enger Schlauch bis über die Exkretionsstämme hinausgeht. Der reife von Eiern erfüllte Uterus geht beiderseits bis an den Rand des Gliedes und zwar unter den beiden Längsgefäßen durch. Die Oncosphäre ist länglich oval (0,036 mm) und wird umhüllt von einer langgestreckten, oft spindelförmigen starkwandigen Hülle, welche einen Längsdurchmesser von bis 0,12 mm Länge und einen Querdurchmesser von 0,02 mm hat. An beiden Enden ist diese Hülle etwas verdickt. Sie wird umgeben von einer feinen äußeren Schale (s. Fig. 18). Bei dem Exemplar aus dem Museum in Berlin fehlt diese äußere Hülle noch und die längsovale, dickwandige Schale ist an jedem Ende mit zwei kurzen fadenförmigen Anhängen versehen (Fig. 19), welche ich bei den aus *Nyctiprogus* und *Podager* stammenden Individuen nicht beobachtet habe. Vielleicht handelt es sich um zwei anatomisch nahe verwandte Formen.

*Hymenolepis teresoides* n. sp.

Fig. 20.

Wirt: *Chaneleasmus streperus* (L.).

Geographische Verbreitung desselben: Nördl. Hemisphäre.

Fundort: ? Museum in Stuttgart, Glas No. 165.

Dieser interessante Cestode entstammt der helminthologischen Sammlung des Museums von Stuttgart und wurde von O. von Linstow als *T. teres* bestimmt. In der Tat ist die Zahl und die Form der Haken dieser Tänie absolut identisch mit denjenigen von *T. teres* Krabbe. Die Größe ist allerdings eine geringere, indem die Haken unserer Tänie 0,09 mm lang sind, während die von *T. teres* 0,15–0,17 mm messen. Total verschieden ist aber besonders der äußere Habitus und namentlich die innere Anatomie der beiden Cestoden.

Das junge Exemplar dieses Cestoden besitzt eine Länge von 4 cm und eine breite von 1,7 mm. Der Skolex mißt 0,5 mm im Durchmesser, seine Saugnäpfe haben 0,19 und das zurückgezogene Rostellum hat einen solchen von 0,23 mm. Die Zahl der, wie schon bemerkt, 0,09 mm großen Haken ist 15, während bei *T. teres* deren 12–16 vorhanden sind.

Während *T. teres*<sup>1)</sup>, wie die Untersuchung des Originalmaterials gezeigt, ein dicker Cestode von kreisrundem Querschnitt ist, mit einer Anatomie, die ihn in keines der bis jetzt geschaffenen Cestodengenera einreihen läßt, ist *T. teresoides* eine typische platte, *Hymenolepis*-Art.

Direkt unter der Cuticula finden wir zahlreiche, oft dicht gedrängte Kalkkörperchen zwischen den Subcuticularzellen, während sie im Parenchym weniger zahlreich sind. Die Muskulatur ist schwer erkenntlich, sie scheint nichts besonders Typisches aufzuweisen.

Erst 9 mm hinter dem Skolex sind die ersten Anlagen der Geschlechtsorgane sichtbar. Die dem Genitalporus gegenüberliegenden beiden Hoden sind in den jungen Gliedern so wie bei den bis jetzt besprochenen Arten disponiert, d. h. so, daß dieselben voreinander liegen und zwar der vordere etwas lateraler disponiert als der hintere. Weiter hinten aber, wo die Geschlechtsdrüsen alle gut entwickelt sind, sehen wir den dritten vorderen Hoden derart verschoben, daß er nicht mehr vor, sondern neben dem hinteren Hoden liegt und zwar oft so, daß alle drei Hoden auf einer Linie liegen. Die Hoden haben einen Durchmesser von 0,2 mm. Der Cirrusbeutel ist keulenförmig an seinem inneren Ende erweitert durch eine eiförmige Vesicula seminalis interna. Da die Längsstämme des Wassergefäßsystem nur 0,2 mm vom Rande entfernt sind, geht der 0,38 mm lange Cirrusbeutel über sie hinweg. Am Austritt des Vas deferens aus dem Kopulationsorgan liegt eine zweite Vesicula seminalis von der Größe eines Hodens.

Ovarium und Dotterstock liegen dem poralen Strobilaende genähert. Bei einer Breite des Gliedes von 1,7 mm liegt die Mitte des Ovarium 0,6 mm von dem Rande, der die Genitalöffnungen trägt, entfernt. Das Ovarium wie auch der Dotterstock ohne jegliche Lappenbildung bis 0,3

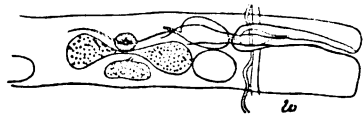


Fig. 20. *H. teresoides* n. sp. Horizontalschnitt (Rekonstruktion).

1) Die von O. v. Linstow gegebenen Zahlen lauten etwas anders; nach ihm sind die Haken 0,1 mm lang, die Saugnäpfe messen im Durchmesser nur 0,14 mm, was nach meiner Messung und Zeichnung etwas zu wenig ist.

und 0,08 mm breit. Die dorsal und vor dem Ovarium gelegene Schalendrüse hat einen Durchmesser von 0,048 mm.

Die Vagina verläuft in fast gerader Linie zur Genitalkloake, wobei sie kein deutlich abgegrenztes Receptaculum seminis zu bilden scheint.

Die ebenfalls vor dem Keimstock gelegene Uterusanlage stellt sich als ein quer verlaufender Zellstrang dar. Proglottiden mit entwickeltem Uterus und Oncosphären finden sich noch keine.

Wir haben es mit einem jugendlichen Individuum zu tun, dessen Länge also wohl bedeutend mehr als 4 cm betragen wird. Interessant ist diese Form durch die Identität der Skolexbewaffnung mit *T. teres*, eine Konvergenzerscheinung, die sich ausschließlich auf den Kopf erstreckt, während die Strobila äußerlich und anatomisch ganz verschieden gebaut ist.

### *Hymenolepis bisaccata* n. sp.

Fig. 21—24.

Wirt: *Nettion brasiliense* (Gm.).

Geographische Verbreitung desselben: ganz Südamerika.

Fundort: Brasilien; Hofmuseum in Wien, Glas No. 541.

Es weist diese Tänie äußerlich den Habitus von *H. lanceolata* auf, Sie ist ca. 10 cm lang und 8 mm breit. Diese bedeutende Breite wird rasch erreicht.

Der Skolex zeigt einen Durchmesser von 0,12—0,16 mm; die Saugnapfe sind oval mit einem Breitendurchmesser von 0,04 und einem Längendurchmesser von 0,06 mm. Das muskulöse Rostellum ist zurückgezogen 0,1 mm lang. Es trägt 8 Haken von 0,037 mm Länge mit einem Fußteil von 0,018 mm (Fig. 21). Bereits 0,04 mm hinter dem Skolex beginnt die Segmentation der kurzgliederigen Strobila. Leider sind die mir zur Verfügung stehenden Exemplare stark maceriert.

Die Muskulatur von *H. bisaccata* ist ziemlich charakteristisch, indem die Längsmuskulatur aus einer äußeren Lage von großen zahlreichen Bündeln besteht, die aus 120 und mehr Fasern zusammengesetzt, während die inneren Längsbündel (60—70 Fasern) auf die mediane Region der Strobila beschränkt sind. So finden wir dorsal und ventral im Mittelfeld 12—13 Längsbündel; bei anderen *Hymenolepis*-Arten mit reduzierter innerer Längsmuskulatur sind es in der Regel 4 Muskelbündel, die dorsal und ventral bestehen bleiben. Bemerkenswert ist auch die bedeutende Stärke der äußeren Bündel, die sonst meist sehr klein und aus wenigen Fasern zusammengesetzt sind. Die Dorsoventralmuskulatur ist stark entwickelt.

Das Nervensystem und namentlich das Exkretionssystem liegen weit nach innen verlagert. So ist in einer jungen Proglottis von 2,7 mm Breite das erstere 0,34, das letztere 0,79 mm vom Rande entfernt gelagert, während die Exkretionsstämme in reifen Gliedern sogar 1,1 mm nach innen verschoben liegen. Das ventrale Gefäß zeigt am Hinterende einen Durchmesser von 0,1 mm, das dorsale, direkt über ersterem liegende, einen solchen von 0,02 mm.

Die drei Hoden (0,23 mm im Durchmesser) liegen nebeneinander auf einer Linie; auf der Seite der Geschlechtsöffnung finden sich in einzelnen Fällen 2 Hoden, so daß 4 männliche Geschlechtsdrüsen in dem betreffenden Gliede sich finden. Der Cirrusbeutel ist nur 0,12 mm lang, wenig muskulös, enthält er eine spindelförmige Vesicula seminalis.

Vor und hinter ihm finden sich je ein 0,05 mm im Durchmesser messender Sacculus accessorius, so daß also dieses hie und da bei *Hymenolepis*-Arten auftretende Organ hier verdoppelt ist.

Die Vagina mündet auf einer Papille unter dem Cirrus in die tiefe Genitalkloake, sie ist auf einer sehr kurzen Strecke (0,06 mm) eng, um sich dann in ein schlauchförmig, leicht gewelltes Receptaculum zu erweitern, das bis zum Ovarium reicht, also fast die halbe Breite der Proglottis als Länge hat, die Vagina also fast ganz Samenreservoir ist. In seiner Anlage ist der Keimstock retikulär, wird aber später ein zwei-flügeliges, aus zahlreichen Eischläuchen bestehendes Organ.



Fig. 21.

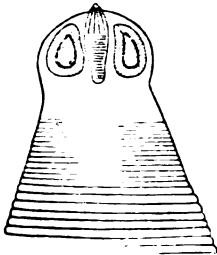


Fig. 22.

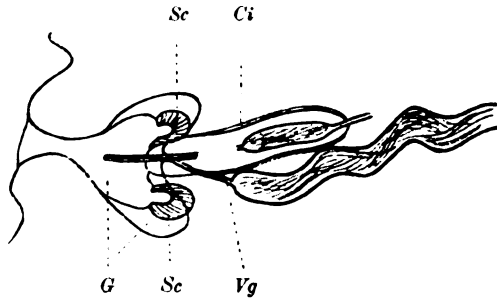


Fig. 23.

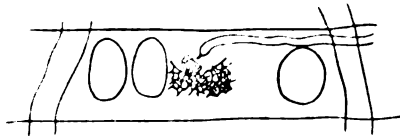


Fig. 24.

Fig. 21. *H. bisaccata* n. sp. Haken des Rostellums.

Fig. 22. *H. bisaccata* n. sp. Skolex.

Fig. 23. *H. bisaccata* n. sp. Totalpräparat, Genitalkloake mit den einmündenden Geschlechtsgängen; ganz reifes Glied. Sc Sacculus accessorius, G Genitalkloake, Vg Vagina, Ci Cirrusbeutel.

Fig. 24. *H. bisaccata* n. sp. Totalpräparat, junge Proglottis.

Den Dotterstock konnte ich wegen des schlechten Erhaltungszustandes nicht mit Sicherheit erkennen, es scheint vor (?) dem Ovarium zu liegen.

Der Uterus erfüllt die ganze Proglottis, geht also über das Wassergefäßsystem weg bis an den Rand. Die kleinen Oncosphären sind 0,02 mm groß und von zwei Hüllen umgeben.

### *Hymenolepis breviannulata* n. sp.

Fig. 25.

Wirt: *Molybdophanes coerulescens* Vieill.

Geographische Verbreitung desselben: Zentralbrasilien, Paraguay, Argentinien.

Fundort: Brasilien, Hofmuseum in Wien, Glas No. 532.

Dieser Darmparasit ist ca. 6 cm lang und 0,5 mm breit; leider fehlt der Skolex.

Die männlichen Geschlechtsdrüsen bestehen aus drei nebeneinander liegenden Hoden, deren Durchmesser 0,04 mm ist. Der Cirrusbeutel



ist schlauchförmig und mißt bei einem Durchmesser von 0,024 mm 0,2 mm. So kommt es, daß er bis zum dritten auf der den Genitalpori gegenüberliegenden Hoden reicht und in jüngeren Gliedern sogar über diesen zu liegen kommt<sup>1)</sup>. Wie bei fast allen langen Kopulationsorganen

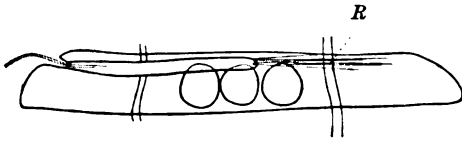


Fig. 25. *H. breviannulata* n. sp. Totalpräparat, junge Proglottis. R Retraktor des Cirrusbeutels.

der Cestoden, finden wir auch hier einen mächtigen Retraktor, der sich bis zum seitlichen Proglottidenrande hinzieht (Fig. 25 R). Das Ovarium ist sehr groß und nimmt fast die ganze Breite des Markparenchyms (0,13 mm) ein. Der Dotterstock liegt hinter dem Ovarium und ist verhältnismäßig klein. Beide

weiblichen Genitaldrüsen sind kaum merklich dem poralen Rande genähert, was auch für den auf der betreffenden Seite liegenden Längsstamm des Exkretionssystems gilt.

Vagina und Receptaculum seminis sind schwer zu erkennen.

Der Uterus ist ein Querschlauch, der bis an den Rand des Gliedes geht.

### *Hymenolepis brasiliense* n. sp.

Fig. 26.

Wirt: *Nyctiprogne leucopygia* (Spix), *Caprimulgus carolinensis* (Gm.)

Geographische Verbreitung des ersteren: Brasilien, des zweiten Vereinigte Staaten, westindische Inseln bis Brasilien.

Fundort: Brasilien, Hofmuseum in Wien, Glas No. 438, 439.

Dieser Cestode ist 14 cm lang bei einer Breite von 1 mm. Sein Skolex ist mit 10 Haken von 0,03 mm Länge bewaffnet (Fig. 26). Ueber seine Anatomie kann ich nur wenige Angaben machen, da der Wurm sehr schlecht erhalten ist.



Fig. 26. *H. brasiliense* n. sp. Haken des Rostellums.

Die drei Hoden liegen auf einer Linie. Der Cirrusbeutel reicht bis an das Längsexkretionsgefäß; er ist 0,14 mm lang. Das Ovarium ist 0,24 mm breit und der ganz ventrale Dotterstock 0,048 mm. Beide Geschlechtsdrüsen sind schwach gelappt.

Der Uterus ist ein schmaler, querverlaufender Schlauch, der über das Wassergefäßsystem hinaus bis an den Rand des Gliedes geht. Die Oncosphären haben einen Durchmesser von 0,025 mm.

### *Hymenolepis rectacantha* n. sp.

Fig. 27.

Wirt: *Aegialites hiaticula* (L.).

Geographische Verbreitung desselben: Grönland, Europa, Capkolonien.

Aus dem Museum von Stuttgart, Glas No. 38.

Dieser von Dr. O. v. Linstow als *T. laevigata*<sup>2)</sup> bestimmte Cestode gehört einer neuen Art des Genus *Hymenolepis* an. Die 10 Haken haben eine Länge von 0,045 mm, wobei der Fußteil vorn charakteristisch

1) Eine Proglottide zeigte zwei vollständig entwickelte Cirrusbeutel in eine gemeinsame Genitalkloake mündend.

2) *T. laevigata* Rud. hat 20 0,11 mm große Haken.

abgestutzt und 0,032 mm lang ist. Dieselben sitzen auf einem schlanken Rostellum, das 0,2 mm lang ist. Die Strobila, die noch jung ist, ist 1 cm lang und 0,12 mm breit. Die reifsten Glieder sind 0,024 mm lang.

Der Cirrusbeutel ist sehr lang (0,08 mm) und geht fast über alle drei Hoden hinweg. Dieselben liegen in einer Reihe und messen 0,02 mm im Durchmesser. Von weiblichen Geschlechtsorganen ist noch nichts zu sehen.



Fig. 27. *H. rectacantha* n. sp. Haken des Rostellums.

***Hymenolepis pauciovata* n. sp.**

Fig. 28—31.

Wirt: *Crypturus erythropus* Natt.

Geographische Verbreitung desselben: Zentralbrasilien.

Fundort: Brasilien, Hofmuseum in Wien, Glas No. 498.

Diese sehr charakteristische Form ist ca. 4 cm lang und 0,4 mm breit. Der Skolex, der 0,23 mm im Durchmesser mißt, hat leider alle Haken verloren (Fig. 28), die Anatomie aber weist darauf hin, daß wir es mit einer typischen *Hymenolepis*-Art zu tun haben.



Fig. 28.

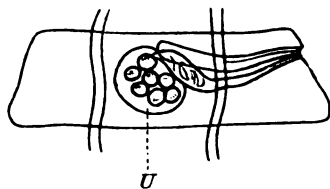


Fig. 30.

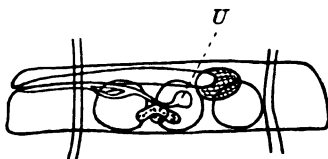


Fig. 29.

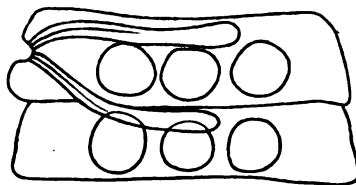


Fig. 31.

Fig. 28. *H. pauciovata* n. sp. Skolex.

Fig. 29. *H. pauciovata* n. sp. Totalpräparat, junges Glied. U Uterus.

Fig. 30. *H. pauciovata* n. sp. Totalpräparat, reifes Glied. U Uterus.

Fig. 31. *H. pauciovata* n. sp. Totalpräparat, Anomalie.

Die dorsalen Hoden (0,04 mm im Durchmesser) liegen alle drei nebeneinander. Der Cirrusbeutel (0,18 mm lang) ist ungemein lang und schlauchförmig; er erreicht im Markparenchym den dritten Hoden (Fig. 29). Bei seinem Austritte bildet das Vas deferens eine fast sphärische Vesicula seminalis.

! In zwei aufeinanderfolgenden Gliedern beobachtete ich die in Fig. 31 dargestellte interessante Anomalie.

Die Vagina, hinter dem Cirrusbeutel ausmündend, erweitert sich innerhalb der Längsgefäße zu einem mächtigen Receptaculum, das bis an das innere Ende des Cirrusbeutels reicht. Die Größe desselben

steht in keinem Verhältnis zu der geringen Zahl der zu befruchtenden Eier. Der Keimstock ist kompakt, nur in der Mitte leicht eingeschnürt; seine Breite beträgt nur 0,048 mm; der Dotterstock ist noch bedeutend kleiner. Bemerkenswert ist der früh als kleines sphärisches Bläschen angelegte Uterus, der etwas vor und seitlich vom Ovarium liegt (Fig. 29). In reifem Zustande zeigen die Glieder einen sphärischen Uterus von 0,08 mm im Durchmesser, derselbe enthält 7—9 Eier (Fig. 30). Die Embryonen messen 0,028 mm im Durchmesser und sind außer der sie umhüllenden feinen Membran noch von zwei Hüllen, die 0,04 und 0,05 mm im Durchmesser messen, umgeben. Die Entwicklung der Eier geht sehr langsam vor sich. In ganz reifen Gliedern findet man außer dem kleinen Uterus noch den Cirrusbeutel und das *Receptaculum seminis*, die Vagina scheint ganz geschwunden zu sein, wenigstens ist sie auf Totalpräparaten nicht mehr sichtbar (vielleicht sehr dünnwandig und durchsichtig).

***Hymenolepis serrata* n. sp.**

Fig. 32—33.

Wirt: *Turtur turtur* (L.).

Museum in Berlin, Glas No. 1958.

Es fanden sich diese Cestoden unter dem Namen *T. sphenocephala* in dem oben verzeichneten Glase. Sie haben aber mit diesen Cestoden weiter keine Ähnlichkeit, als daß beide in das Genus *Hymenolepis* gehören. Da *T. sphenocephala* Rud. nur dem Namen nach bekannt ist und diese Unkenntnis bereits manche Verwirrung und Verwechselung hervorgerufen hat, will ich diese Tänie am Schlusse auf Grund der Untersuchung des Originalmaterials, das ich dem liberalen Entgegenkommen des Museums in Berlin verdanke, kurz beschreiben.

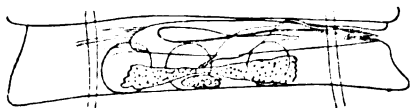


Fig. 32.



Fig. 33.

Fig. 32. *H. serrata* n. sp. Totalpräparat. R Retraktor des Cirrusbeutels.

Fig. 33. *H. serrata* n. sp. Anomalie, partiell verdoppelter Cirrusbeutel.

Der kleine Skolex von *H. serrata* zeigt einen Durchmesser von 0,15 mm, die Saugnäpfe sind oval und haben einen Längendurchmesser von 0,09, einen Breitendurchmesser von 0,06 mm. Das Rostellum, dem leider die Haken fehlen, ist 0,01 mm lang.

Bei unserer neuen Taubentänie, von welcher mir nur Fragmente vorliegen, liegen die drei Hoden in einer Linie, sie messen 0,05—0,07 mm im Durchmesser.

Der sehr große Cirrusbeutel reicht bis über die Mitte des Markparenchyms hinaus (Länge 0,4 mm); er enthält eine große *Vesicula seminalis* und einen sehr langen Cirrus, der überall die in beistehender Figur verzeichnete Disposition besitzt; namentlich scheint die Biegung in der Nähe des Genitalporus charakteristisch. Der Teil, der auf der poralen Seite der Biegung liegt, ist bestachelt und wurde mehrfach ausgestülpt in der Vagina gefunden. Der Cirrusbeutel besitzt einen deutlichen Retraktor. Einmal wurde eine partielle Verdoppelung des Cirrusbeutels beobachtet und zwar so, daß der innere Teil des Cirrusbeutels

und der Cirrus doppelt, während die dem Rande zugekehrte Hälfte des Cirrusbeutels einfach war (Fig. 33).

Die Vagina liegt meist vor dem Cirrusbeutel; ihr Anfangsteil ist ziemlich weit, verengert sich aber rasch, um unter dem Cirrusbeutel sich zu einem verhältnismäßig kleinen, spindelförmigen *Receptaculum seminis* zu erweitern. Der Keimstock ist sehr breit, indem er bei einer Breite des Gliedes von 0,68 mm 0,4 mm mißt. Der Dotterstock ist nur 0,1 mm breit. Beide Genitaldrüsen sind nur schwach gelappt. Wenn sich dieselben wohlentwickelt haben, sind die Hoden bereits vollständig verschwunden. Der Uterus ist sackförmig und reicht in gefülltem Zustande bis an den Rand des Gliedes.

### *Hymenolepis sphenocephala* Rud.

Fig. 34 und 35.

Das Originalmaterial dieser Tänie findet sich im Museum für Naturkunde, Glas No. 1059; in demselben Gefäß konstatierten wir auch Exemplare der interessanten *Bertia Delafondi* Raillet<sup>1)</sup>, mit welcher obige Art von Megnin und Linstow verwechselt wurde. *H. sphenocephala* ist ca. 8 cm lang und 2 mm breit. Die Muskulatur besteht aus einer inneren Transversalmuskulatur, worauf 4 starke Längsbündel und weiter nach außen eine Lage kleiner, sehr zahlreicher Längsmuskelbündel folgen. Die lateralen Bündel der vier dorsalen und ventralen Längsmuskeln liegen direkt über den Exkretionsstämmen.

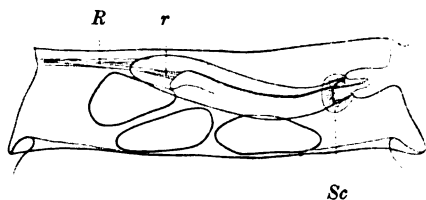


Fig. 34.

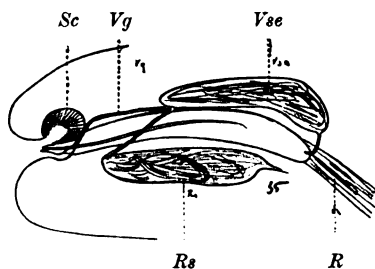


Fig. 35.

Fig. 34. *H. sphenocephala* Rudolphi. Totalpräparat, junges Glied. R Retraktor des Cirrusbeutels, r Retraktor des Cirrus, Sc Sacculus accessorius.

Fig. 35. *H. sphenocephala* Rudolphi. Querschnitt, Rekonstruktion. Sc Sacculus accessorius, Vg Vagina, Rs Receptaculum seminis, Vse Vesicula seminalis externa, R ventralwärts verlaufender Retraktor des Cirrus.

Die Genitalkloake liegt vor der vorderen Hälfte des Gliedrandes, in sie münden, ganz dorsal gelegen, ein großer Sacculus accessorius, darunter der Cirrus und ganz ventral die Vagina. Der Sacculus zeigt einen Durchmesser von 0,1 mm, er ist von 0,018–0,02 mm langen Borsten ausgekleidet und besitzt eine ungemein starke Muskulatur und zahlreiche Drüsenzellen, die in ihn münden.

Die männlichen Geschlechtsdrüsen entwickeln sich schon in den ersten Proglottiden, während die weiblichen Organe erst etwa 2,5 cm hinter dem Skolex ihrer Reife entgegengehen, d. h. die Geschlechtsdrüsen ihre maximale Größe fast plötzlich erreicht haben.

1) Fuhrmann, O., Bemerkungen über einige neuere Vogelcestoden (diese Zeitschrift. Bd. XXIX. 1901. p. 759. und die Anoplacaphaliden der Vögel (ebenda. Bd. XXXI. 1902. p. 132).

Die drei Hoden des männlichen Geschlechtsapparates liegen nicht in einer Linie, sondern zwei derselben voreinander, der vordere aber etwas außerhalb des hinteren antiporalen Hodens. Sie sind sehr groß (0,28 mm) und füllen in den vorderen noch ganz männlichen Gliedern den ganzen zur Verfügung stehenden Raum im Markparenchym aus, so daß sie weder kreisrund noch oval in variabler Form dicht gedrängt liegen.

Der Cirrusbeutel ist sehr groß und reicht bei einer Länge von 0,56 mm weit über die Mitte der Glieder hinaus. Der Cirrus ist sehr lang und fein bedornt, außer ihm füllt eine große Vesicula seminalis den schwach muskulösen Cirrusbeutel. Die Penistasche ist leicht ventralwärts gebogen und die Fasern des mächtigen Retraktors ziehen alle auf der Ventralseite unter dem ventralen Wassergefäß durch ins Bindenparenchym. Der Cirrus besitzt ebenfalls einen deutlichen Rückziehmuskel. Gleich bei seinem Austritt bildet das Vas deferens eine mächtige Vesicula seminalis externa, welche über dem Cirrusbeutel bis in die Nähe des Sacculus accessorius reicht.

Interessant und typisch ist der Verlauf der Vagina; ihre Ausmündung liegt ventral vom Cirrusbeutel, aber nur 0,02 mm vor der Oeffnung biegt sich dieselbe direkt dorsalwärts, um bis etwa in die Mitte des Cirrusbeutels dorsal von ihm zu verlaufen. Ventral vom Cirrusbeutel liegt ein sehr großes Receptaculum seminis und nach ihm zieht die Vagina. Der Keimstock ist sehr flach, nimmt aber die ganze Breite des Markparenchyms ein; er ist tief gelappt. Der nur 0,2 mm breite Dotterstock ist dagegen in dorsal-ventraler Richtung viel stärker entwickelt als das Ovarium (0,05 mm hoch) und ebenfalls tief eingeschnitten ist.

Der Uterus ist anfangs mit sehr zahlreichen Ausbuchtungen versehen, wird aber dann in ganz reifen Gliedern einfach sackförmig, das ganze Markparenchym ausfüllend. Die Oncosphären haben einen Durchmesser von 0,024 mm, die äußere Hülle einen solchen von 0,036 mm.

### *Hymenolepis elongata* n. sp.

Fig. 36.

Wirt: *Mylobdophanes coerulescens* Vieill.

Geographische Verbreitung desselben: Zentralbrasilien, Paraguay, Argentinien.

Fundort: Brasilien, Hofmuseum in Wien, Glas No. 532b.

Trotzdem der Skolex fehlt, ist dieser Cestode, von dem mir nur junge Exemplare von 4 cm Länge und 0,75 mm Breite zur Verfügung standen, leicht zu erkennen, da er zu einem Typus der *Hymenolepis*-

Arten gehört, von welchem bis jetzt nur die zwei aus Entenvögeln stammenden Arten *H. lanceolata* und *H. setigera* bekannt sind.

Die Hoden (0,1 mm im Durchmesser) dieser Art liegen in einer Linie nebeneinander dem Genitalporus genähert, so daß die weib-

lichen Geschlechtsdrüsen auf der der Geschlechtsöffnung gegenüberliegenden Seite Platz finden. Der Cirrusbeutel ist schlauchförmig 0,24 mm lang, geht deshalb über das Längsgefäß des Exkretionssystems hinaus bis auf die Höhe des zweiten Hodens.

Die Vagina mündet, wie der Cirrus, in die in der Mitte des Randes der Proglottis gelegene wenig tiefe Genitalkloake. Sie bildet in der

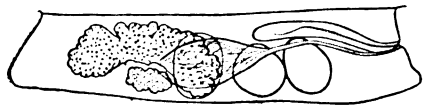


Fig. 36. *H. elongata* n. sp. Totalpräparat.

Nähe des Keimstockes ein großes Receptaculum seminis. Keimstock und Dotterstock, ersterer 0,3, letzterer 0,1 mm breit, liegen, wie schon bemerkt, ganz auf der dem Genitalporus gegenüberliegenden Seite, und zwar so, daß der dritte dorsale Hoden noch einen Flügel des Ovariums teilweise bedeckt.

Beide Geschlechtsdrüsen sind deutlich gelappt.

Der Uterus war noch nicht entwickelt, indem überhaupt die Entwicklung der Geschlechtsorgane eine sehr langsame zu sein scheint.

### *Hymenolepis ardeae* n. sp.

Fig. 37—39.

Wirt: *Butorides virescens* (L.).

Geographische Verbreitung desselben: Zentralamerika.

Fundort: Brasilien, Hofmuseum Glas No. 308b, 307; Museum in Berlin Glas No. 1976.

~ In dieselbe Gruppe der *Hymenolepis*-Arten, wie die vorhergehende, gehört *H. ardeae*, sie wird wohl mehr als 10 cm lang und 2,3 mm breit sein.

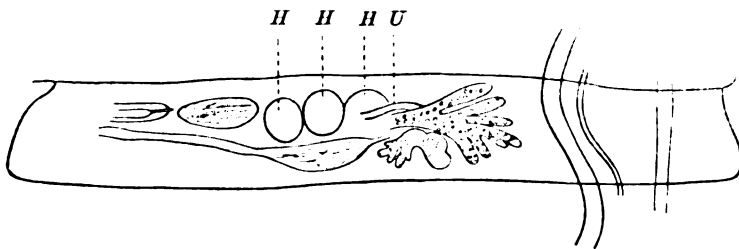
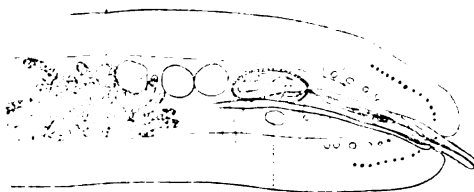


Fig. 38.

*Sd*



Fig. 37.



*Wv Wd*

Fig. 39.

Fig. 37. *H. ardeae* n. sp. Haken des Rostellums.

Fig. 38. *H. ardeae* n. sp. Flächenschnitt, junges Glied. *U* Uterus (leer), *H* Hoden.

Fig. 39. *H. ardeae* n. sp. Querschnitt. *Sd* Schalendrüse, *Wv* ventrales Exkretionsgefäß, *Wd* dorsales Exkretionsgefäß.

Die den nur 0,15 mm im Durchmesser messenden Skolex bewaffnenden 10 Haken sind 0,045 mm lang, mit einem Fußteil, der eine Länge von 0,03 mm hat. Die Haken haben den Habitus derjenigen von *H. lanceolata*.

Die Schnitte durch die Strobila zeigten, daß die Muskulatur verschieden ist von der von *H. lanceolata*, während bei derselben die Transversalmuskulatur fehlen soll (Wolfhügel) oder doch wenigstens sehr

schwach entwickelt ist (Clerc), finden wir sie hier, wenn auch nicht stark, so doch deutlich entwickelt. Die Längsmuskulatur besteht nicht aus einer, sondern aus zwei deutlichen Lagen von Muskeln, von welchen die äußeren Bündel 2—3mal so zahlreich, aber auch bedeutend schwächer sind.

Die Dorsoventralmuskeln sind sehr gut entwickelt, namentlich in den seitlichen Teilen der Glieder. Das Wassergefäßsystem zeigt sehr deutlich die beiden Längsgefäße nicht übereinander, wie dies meist der Fall ist bei dieser Gruppe, sondern nebeneinander liegend und zwar auf gleicher Höhe. Dabei ist das eine äußere (dorsale) Gefäß etwa fünfmal enger als das innere. Beide Längsgefäße sind ziemlich weit nach innen verschoben (0,7 mm) und in etwa der Mitte zwischen ihnen und dem Gliedrand liegt der starke Längsnerv.

Der Cirrusbeutel ist nur 0,5 mm lang, schlauchförmig und reicht gerade an das äußere enge dorsale Exkretionsgefäß heran. Der Cirrus ist dick (0,03 mm) und mit rückwärts gerichteten Dornen bewaffnet. Er besitzt zahlreiche Retraktionsfasern. Im Cirrusbeutel findet sich eine langgestreckte *Vesicula seminalis*. Beim Austritt des *Vas deferens* zeigt sich ebenfalls eine *Vesicula seminalis* von bedeutend größerem Umfang, welche ganz von Zellen — wohl Drüsenzellen — umhüllt ist. Dieselbe ist 0,25 mm lang und liegt über den Exkretionsstämmen. Die drei ganz dorsal gelegenen Hoden (Durchmesser 0,14 mm) liegen auf einer Linie dicht gedrängt beisammen, einerseits berührt von der *Vesicula seminalis*, auf der entgegengesetzten Seite von der großen Schalendrüse.

Die Vagina ist weit, so daß sie wohl fast auf ihrer ganzen Länge als *Receptaculum seminis* funktionieren kann. Dasselbe findet sich nur wenig weiter als die Vagina in der Nähe des Keimstockes. Die Lage der tief eingeschnittenen weiblichen Geschlechtsdrüsen ist eine charakteristische. Während sie bei fast allen *Hymenolepis*-Arten in der Mitte des Gliedes liegen, finden wir sie bei dieser und einigen anderen Arten (*H. lanceolata*, *H. setigera*, *H. elongata* n. sp.) nach der dem Genitalporus gegenüberliegenden Seite verschoben. Bei *H. lanceolata* sind dieselben so disponiert, daß keiner der Hoden über ihnen liegt, während bei *H. setigera*, wie aus den Zeichnungen von Clerc<sup>1)</sup> klar ersichtlich, der dritte Hoden ganz über dem Keimstock liegt; dagegen nehmen *H. elongata* n. sp. und *H. ardeae* n. sp. eine Zwischenstellung ein, insofern, als der dritte Hoden nur dem dem Genitalporus zugekehrten Flügel des Ovariums mehr oder weniger überlagert ist.

Das tief gelappte Ovarium ist 0,8 mm breit, der ebensolche Dotterstock 0,26 mm und die dorsale Schalendrüse zeigt einen Durchmesser von 0,1 mm.

Der Uterus ist erst als ein enger Schlauch angelegt, der dorsal über den Exkretionsstämmen, obwohl ohne Eier, bereits bis ganz an den Rand des Markparenchyms verläuft.

1) Clerc, Wl., Contribution à l'étude de la faune helminthologique. (Revue suisse de Zoologie. T. XI. 1903.)

Nachdruck verboten.

Eier von *Oxyuris vermicularis* L. im Wurmfortsatz.

[Aus dem pathologischen Institut zu München.]

Vom kgl. bayer. Oberarzt Dr. **Hermann Schöppler**,  
z. Zt. kommandiert zum pathol. Institut der Universität München.

Mit 1 Figur.

Bei der Sektion eines an Diphtherie gestorbenen Kindes, die in obigem Institute gemacht wurde, fand sich im Wurmfortsatz ein kleines weißes Fädchen, anscheinend ein *Oxyuris vermicularis*. Die Notiz hierüber im Sektionsprotokoll<sup>1)</sup> lautet:

Der Process. vermiform. ungefähr 6 cm lang, im kleinen Becken gelegen, ist gut durchgängig. Bei der Eröffnung desselben findet sich ein weißes, einem *Oxyuris vermicularis* ähnliches fadenförmiges, weißes Stückchen, das der Schleimhaut lose aufliegt.

Dieses weiße Fädchen hatte eine Länge von etwa 4 mm, entsprach also der Größe eines männlichen Exemplares von *Oxyuris vermicularis*. Das eine Ende des Fädchens ging etwas schmal, fast spitz zu.

Zur mikroskopischen Untersuchung wurde das kleine Stückchen in Glycerin eingeschlossen. Dabei fand sich, daß das kleine weiße, faden-

ähnliche Gebilde aus dicht aneinander gelagerten Nematodeneiern, und zwar ausschließlich aus Eiern von *Oxyuris vermicularis* bestand. Die Eier hatten, wie aus der beistehenden Abbildung zu ersehen ist, die charakteristische ovale Gestalt der *Oxyuris*-Eier, eine flache und eine gewölbte Fläche, und waren mit einer dünnwandigen, stark lichtbrechenden Schale umgeben. Auch die Maßverhältnisse, 50  $\mu$  Länge und 24  $\mu$  Breite, stimmten vollständig mit den Maßangaben der verschiedenen Autoren [Leuckart



(1), Küchenmeister (2), Zenker und Heller, Zürn (3), Braun (4)] überein. Der Eiinhalt bestand aus einer fast homogenen, leicht gekörnten, grauweißen Protoplasmamasse, in der sich bei einzelnen Exemplaren ein blasser Kern vorfand. Die Lage der Eier zueinander

1) Sektionsjournal 1905. No. 1030.



entsprach ganz dem Prinzip der kleinsten Raumverteilung. Die Eier waren stark aneinander, häufig etwas übereinander gelagert, ganz entsprechend ihrer Lage im Uterus, wie ich mich an Präparaten überzeugen konnte, die mir zum Vergleiche aus der Sammlung des hiesigen zoologischen Institutes zur Verfügung gestellt wurden.

Es ist verführerisch, anzunehmen, daß eine Gesamtausstoßung des ganzen Uterusinhaltes hier stattgefunden haben könnte. Diese Annahme wäre jedoch höchst unwahrscheinlich. Schon der Reifezustand, in dem sich die Eier befinden, spricht dagegen. Die Eier sind sämtlich noch auf einem sehr frühen Stadium der Entwicklung. Es ist aber bekannt, daß das Ablegen der Eier bei *Oxyuris vermicularis* stets mit bereits entwickeltem Embryo („kaulquappenähnlichem Embryo“) erfolgt. Viel wahrscheinlicher dagegen ist es, anzunehmen, daß ein in den Wurmfortsatz eingewandertes *Oxyuris*-Weibchen daselbst durch irgendwelche Ursache seinen Untergang fand. Der Körper des Wurmes verfiel der Maceration und die widerstandsfähigeren Eier blieben fortbestehen, und zwar in der Form, in der sie in dem Uterus gelagert waren, so daß sie als ein dem Uterus ähnlicher Ausguß gefunden werden konnten.

Es ist bekannt, daß *Oxyuris vermicularis* schon fast überall im Abdomen gefunden worden ist. Wagner (Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. LXXXI. 1904) fand ihn in der Darmwand, Friedrich (5) in 2,80 Proz. aller von ihm untersuchten Fälle im Darm, Ruffer (6) im Rectum, Pomper (7) im Magen, Kolb im Peritoneum, Leuckart in der Scheide und im Uterus, E. M. Simons (8) in der Gebärmutter, Marco (Archivio per le scienze mediche. Vol. XXV. 1901) im Eileiter. Ueber Darmdurchgang von *Oxyuris vermicularis* berichtet Vuillemin (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXII).

Eier von *Oxyuris vermicularis* im Darm des Menschen fand Kessler (11) in 7,16 Proz. von seinen untersuchten Fällen. Wenn Braun (4) dagegen schreibt, daß Eier von *Oxyuris vermicularis* „kaum jemals in den Faeces angetroffen“ werden, so scheint mir das nicht wahrscheinlich. v. Jaksch (9) berichtet z. B.: Im Stuhle älterer Kinder wurden fast stets Eier von *Oxyuris vermicularis* gefunden. Ich selbst besitze Präparate von *Oxyuris*-Eiern, die aus den Faeces von Kindern hergestellt wurden und mit mir werden noch viele Kollegen in dem Besitze solcher Präparate sein.

Daß *Oxyuris vermicularis* im Process. vermiform. vorkommt, ist Pathologen wie Klinikern bekannt. Moty (Acad. de méd.) fand in den bei Operationen entfernten Process. vermiform. sehr häufig *Oxyuris vermicularis*. In 3 von 5 operierten Fällen schien dieser Parasit die einzige Ursache der Erkrankung gewesen zu sein. Still (British med. Journ. 1899) nennt den Wurmfortsatz den Lieblingsaufenthalt von *Oxyuris vermicularis*. Er beschuldigt sie, daselbst sehr häufig Entzündungserscheinungen hervorzurufen. Hall (10) sagt wörtlich: „*Oxyuris vermicularis* verursacht Appendicitis nur dann, wenn er als Fremdkörper erscheint.“ Er führt dann einen Fall an von einem 9-jährigen Mädchen, das unter den Erscheinungen einer Appendicitis erkrankte. Es fanden sich im roten geschwollenen, brandigen, an einer Stelle perforierten Wurmfortsatze 2 *Oxyuris*, als Sekundärerscheinung *Staphylococcus pyogenes*.

Wenn nun der in den Wurmfortsatz gelangte lebende Parasit, hier also *Oxyuris vermicularis*, wie Still annimmt, durch seine lebhaften, fortwährend bohrenden Bewegungen im stande ist, durch diesen fort-

währenden Reiz eine Appendicitis zu verursachen, so ist auch nicht ausgeschlossen, daß durch den abgestorbenen Wurm, soweit er durch Maceration nicht vollkommen zerstört werden kann, wie z. B. durch das Weiterbestehen größerer Eiaggregate ein lokaler ständiger, wenn auch nur geringer Reiz der Schleimhaut erfolgen kann, der zu Entzündungserscheinungen und durch die Möglichkeit sekundärer Infektion zur Appendicitis führen kann. Eine weitere Möglichkeit der Entstehung einer Appendicitis bei bereits zu Grunde gegangenen Parasiten ist auch dann vorhanden, wenn sich nach Auflösung des im Process. vermiform. zu Grunde gegangenen *Oxyuris* die restierenden Eier inkrustieren und dann ähnlich wie Kotsteine oder sonstige Fremdkörper im Wurmfortsatz wirken, wie einen ähnlichen Fall Ruffer (6) beobachtet hat, bei dem es durch Eiablage in die Darmwand des Rectum zu direkter Steinbildung, Verkalkung der *Oxyuris*-Eier kam. Die Gefahr einer Appendicitis kann also auch noch nach dem Absterben eines in den Wurmfortsatz eingewanderten *Oxyuris vermicularis* fortbestehen. In dieser Hinsicht schien es mir von Interesse zu sein, meinen Fall zur Veröffentlichung zu bringen.

An dieser Stelle sei es mir auch gestattet, Herrn Prof. Dr. Dürck für die Ueberlassung des Falles, sowie Herrn Privatdozenten Dr. Doflein für die mir zur Verfügung gestellten Präparate der zoologisch-zootomischen Sammlung meinen ergebensten Dank auszusprechen.

#### Literatur.

- 1) Leuckart, Die Parasiten des Menschen. Leipzig.
- 2) Küchenmeister, Die Parasiten des Menschen.
- 3) Zürn, F. A., Die tierischen Parasiten. Weimar 1882.
- 4) Braun, M., Die tierischen Parasiten des Menschen. Würzburg 1895.
- 5) Friedrich, A., Ueber die Häufigkeit tierischer Darmparasiten bei Erwachsenen in München. (Münch. med. Wochenschr. 1887.)
- 6) Ruffer, W. A., Note on the lesions produced by *Oxyuris vermicularis*. (Brit. med. Journ. Vol. I. 1901.)
- 7) Pomper, Beitrag zur Lehre von *Oxyuris vermicularis*. [Inaug.-Diss.] Berlin 1875.
- 8) Simons, E. M., Entozoen in der Gebärmutter. (Centralbl. f. Gynäkol. 1899.)
- 9) v. Jaksch, R., Ueber das Vorkommen von tierischen Parasiten in den Faeces der Rinder. (Wien. klin. Wochenschr. 1888.)
- 10) Hall, W., Höhere tierische Parasiten. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I.) Bd. XXXV.
- 11) Kessler, Tierische Darmparasiten. (Wratsch. 1888. No. 6/7.)

Nachdruck verboten.

## On the so-called complementoid of hemolytic serum<sup>1)</sup>.

[From the Pathological Laboratories of Indiana University and the University of Chicago.]

By Wilfred H. Manwaring, Sc. B., M. D.,  
Associate Professor of Pathology, Indiana University.

With 3 diagrams.

In a previous communication<sup>2)</sup>, it was shown that heated hemolytic serum is so changed by exposure to corpuscles that direct quantitative

1) Presented before the Chicago Pathological Society, Nov. 13, 1905, and before the Society of American Bacteriologists, at Ann Arbor, Mich., Dec. 28, 1905. Work aided by a grant from the Rockefeller Institute for Medical Research.

2) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XL. p. 386.

comparisons between it and unexposed serum lead to erroneous conclusions. Since then, attempt has been made to discover the nature of this change and the means of overcoming it, and thus making analyses possible. This work is now in progress and will be reported in full at a later date. There will be reported here only a few of the earlier experiments, which indicate one of the ways in which such exposure alters serum, and which are of additional interest in that they show the action of hemolytic serum to be a much more complex phenomenon than current hypotheses lead one to believe.

There are two ways in which exposures of heated hemolytic serum to blood corpuscles can produce qualitative changes in that serum. Such exposure may: (1) alter the chemical composition of certain components in the serum, or (2) it may disturb the quantitative relations between these components.

According to modern theories of immunity, there are two important components or groups of components in heated hemolytic serum: (1) the thermostable amboceptor, and (2) certain hypothetical degeneration products of complement, to which the name "complementoid" has been given. Experiments were therefore undertaken to determine the effect of altering the quantitative relation between amboceptor and "complementoid".

To do this amboceptor curves<sup>1)</sup> were plotted with mixtures of amboceptor (heated hemolytic serum) and "complementoid" (heated normal serum). Two curves obtained in this way are shown in Figure 1. The lower curve (A) was obtained by using amboceptor containing only the "complementoid" present in its own volume; the upper curve (B), by using the same amboceptor plus twice its volume of "complementoid".

The difference between the two curves is very strikingly shown by calculating the strength of one serum in terms of the other, under the assumption that the sera are directly comparable. Such a calculation is shown in Table 1, from which it is seen that the amboceptor to which "complementoid" has been added is apparently anywhere from 110 per cent. to 200 per cent. the strength of pure amboceptor, the percentage depending on the volumes taken for comparison.

Table 1. Serum strength of Amboceptor-„Complementoid" mixture (Fig. 1).

Hemolysis	Pure Amboceptor	Amboceptor + „Complementoid"	Apparent strength
5 per cent.	0,040 ccm	0,020 ccm	200 per cent.
10 " "	0,066 "	0,046 "	144 " "
15 " "	0,080 "	0,064 "	125 " "
20 " "	0,090 "	0,075 "	120 " "
30 " "	0,101 "	0,088 "	115 " "
40 " "	0,108 "	0,098 "	110 " "
50 " "	0,114 "	0,104 "	110 " "
60 " "	0,121 "	0,110 "	110 " "
70 " "	0,128 "	0,115 "	111 " "
80 " "	0,140 "	0,122 "	115 " "
90 " "	0,166 "	0,136 "	125 " "
100 " "	0,230 "	0,164 "	140 " "

Two additional curves, obtained in the same way, are shown in Figure 2, and the corresponding strengths of amboceptor in Table 2. This amboceptor is apparently anywhere from 98 per cent. to 275 per

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XL. p. 400.

cent. as strong as pure amboceptor, depending on the volumes used in analysis.

Table 2. Serum strength Amboceptor-"Complementoid" mixture. (Fig. 2)

Hemolysis	Pure Amboceptor	Amboceptor + "Complementoid"	Apparent strength
5 per cent.	0.110 ccm	0.440 ccm	275 per cent.
10 " "	0.156 "	0.620 "	190 " "
15 " "	0.180 "	0.720 "	164 " "
20 " "	0.192 "	0.768 "	143 " "
30 " "	0.220 "	0.880 "	133 " "
40 " "	0.240 "	0.960 "	127 " "
50 " "	0.260 "	1.040 "	124 " "
60 " "	0.280 "	1.120 "	120 " "
70 " "	0.300 "	1.200 "	114 " "
80 " "	0.324 "	1.296 "	109 " "
90 " "	0.356 "	1.424 "	101 " "
100 " "	0.406 "	1.624 "	98 " "

If, in place of plotting the curves to represent equal volumes of amboceptor, they are plotted to represent equal volumes of total serum, there is obtained, in place of Curve B, of Fig. 2, a curve whose abscissas are twenty times as great. This represents the hemolysis by a serum from which 95 per cent. of the amboceptor has been removed, other components remaining unchanged. For such a serum (Table 3) analysis shows anywhere from 4.9 per cent., to 13.8 per cent. original amboceptor.

Table 3. Analytical data for five per cent. Amboceptor. (Fig. 3.)

Hemolysis	100 per cent. Amboceptor	5 per cent. Amboceptor	Apparent strength
5 per cent.	0.110 ccm	0.80 ccm	13.8 per cent.
10 " "	0.156 "	1.64 "	9.5 " "
15 " "	0.180 "	2.20 "	8.4 " "
20 " "	0.192 "	2.68 "	7.2 " "
30 " "	0.220 "	3.32 "	6.7 " "
40 " "	0.240 "	3.76 "	6.4 " "
50 " "	0.260 "	4.20 "	6.2 " "
60 " "	0.280 "	4.68 "	6.0 " "
70 " "	0.300 "	5.24 "	5.7 " "
80 " "	0.324 "	5.96 "	5.5 " "
90 " "	0.356 "	7.04 "	5.2 " "
100 " "	0.406 "	8.28 "	4.9 " "

Changing the relative amounts of amboceptor and "complementoid", therefore, so changes the serum that it liberates hemoglobin according to a new law, thus rendering direct quantitative analysis impossible. This undoubtedly accounts for part, at least, of the change noticed in heated hemolytic serum after exposure to corpuscles, it being currently assumed that during exposure, amboceptor is removed from the serum by absorption by the corpuscles, while the other compounds remain unchanged. Whether this accounts for the total change in exposed serum or not, has not yet been determined.

Figures 1 and 2 show, what is believed to be a heretofore unobserved phenomenon, that of increase in hemolysis as a result of addition of "complementoid". This observation is contrary to the current view that "complementoid" lessens serum action by forming inactive amboceptor-"complementoid" compounds. Experiments were, therefore, undertaken to verify this observation.

To do so, increasing amounts of "complementoid" were added to the same amounts of hemolytic serum, or to a hemolytic amboceptor complement mixture, the resulting hemolysis estimated colorimetrically and plotted as a curve, showing the change in hemolytic power as the "complementoid" increases. Such a curve is shown in A, Figure 3, from which it

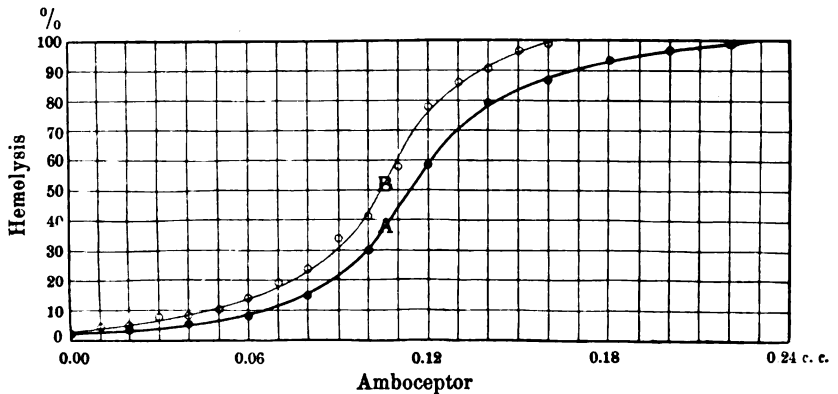


Fig. 1. Influence of "complementoid" on amboceptor curve. A = amboceptor curve; B = curve by same amboceptor, plus twice its volume of "complementoid". Curves made with same sera, same corpuscles and on the same day.

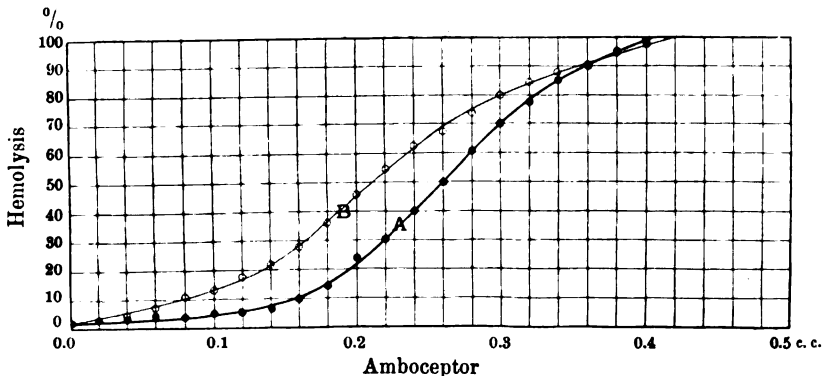


Fig. 2. Influence of "complementoid" on amboceptor curve. A = amboceptor curve; B = curve by same amboceptor, plus nineteen times its volume of "complementoid". Curves made with same sera, same corpuscles and on the same day.

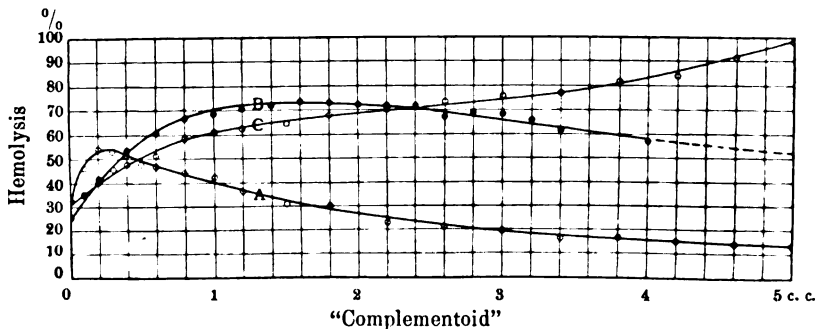


Fig. 3. "Complementoid" curves. The curves are selected to illustrate three types of "complementoid" action. They were made with different sera, different corpuscles and on different days, and are therefore not otherwise directly comparable.

is seen that the addition of "complementoid" at first rapidly increases hemolysis, but afterwards gradually decreased it, presumably eventually to zero.

A second "complementoid" curve is shown in B. This exhibits the same general phenomenon of Curve A, except that in B the primary rise is less rapid and the secondary fall much delayed. In repeating the experiment with a third serum, however, strikingly different curves were obtained, one of which is shown in C. In these the primary rise occurred as before; but, in place of the secondary fall, there was a secondary rise to complete lysis.

On examining the data for the above curves, it was found that the serum which was heated to form "complementoid" was heated for different periods of time in the three experiments. For Curve A it was heated to  $56^{\circ}\text{C}$  for 45 minutes; for Curve B to  $56^{\circ}\text{C}$  for 60 minutes; while the serum used for Curve C was, in large part, reheated, the second heating being after the addition of an equal volume of fresh serum. The relation between length of heating and the nature of the "complementoid" curve is now under investigation.

#### Summary.

1. Changing the relative amount of amboceptor and "complementoid" so changes hemolytic serum that direct quantitative comparisons between it and unaltered serum are impossible.

2. This accounts for part, at least, of the qualitative change observed in heated hemolytic serum after exposure to corpuscles.

3. The addition of "complementoid" to hemolytic serum, at first, rapidly increases its hemolytic power. A further addition either gradually decreases it, leaves it unchanged, or further increases it, depending, apparently, in part at least, on the length of time the "complementoid" has been heated.

4. The action of "complementoid" is so pronounced that quantitative work that does not take its presence into account is practically valueless. This applies to such experiments as those forming the basis for the doctrine of "deviation of complement", and of "anti-complement".

5. It would be difficult to explain the complex action of "complementoid" by means of existing hypotheses of serum action.

6. No conclusion is drawn as to whether "complementoid" is really a degeneration product of complement, or whether it may not be a mixture of spilt-products of other serum components, or of certain thus far unrecognized thermo-stable components of normal serum.

*Nachdruck verboten.*

## Weitere Untersuchungen über den Mechanismus der Agglutination und Präzipitation.

### II. Teil.

[Aus dem k. k. hygienischen Institut der Jagellonischen Universität Krakau.  
Vorstand Prof. O. Bujwid.]

Von Dr. Philipp Eisenberg, Assistenten am Institut.

(Fortsetzung.)

Wenn wir nun fragen, worauf dieses Verschwinden der Hemmungsfähigkeit bei hoher Temperatur zurückzuführen ist, so bieten sich, solange man auf dem Boden der Proagglutinoidtheorie bleibt, zwei Erklärungsmöglichkeiten dar. Entweder kann die Hitze, die zunächst die

Agglutinine in Proagglutinoide umwandelt, bei weiterer Einwirkung ihre Affinität zu den Bakterienrezeptoren herabsetzen und sie — nach Ehrlich'scher Nomenklatur — zu Syn- und Epagglutinoiden umwandeln oder aber die haptophore Gruppe kann überhaupt zerstört und damit der spezifische Charakter dieser Körper zum Verschwinden gebracht werden. Daß das Erhitzen die Hemmungsfähigkeit vernichtet, konnte ich in der Weise direkt nachweisen, daß ich ein bei 62—63° C inaktiviertes Typhusserum, das sehr deutliche Hemmungserscheinungen bot, weiter auf 75° erhitze, wobei die Hemmungsfähigkeit verloren ging. Bezüglich der Frage, ob bei höherer Temperatur die Proagglutinoide in Syn- und Epagglutinoide übergehen oder aber völlig vernichtet werden (d. h. ihre Affinität zu den Bakterien verschwindet), ist durch die Versuche von Eisenberg und Volk nachgewiesen, daß Bakterien, auf die bei 75° inaktiviertes Serum eingewirkt hat, weniger Agglutinin binden, als normale Bakterien, daß folglich ein Teil ihrer Rezeptoren von Agglutinoiden besetzt sein muß (S. 180). Sodann sprechen die Experimente mit gleichzeitiger Einwirkung von aktivem und bei 75° inaktiviertem Serum zum mindesten für die Anwesenheit von Synagglutinoiden im erhitzten Serum (p. 183). Meine neueren Versuche in dieser Richtung habe ich in der Weise angestellt, daß eine bestimmte Menge aktiven Serums auf eine bestimmte Menge von Bakterien einwirkte und zwar in einer Probe in Gegenwart des auf 75° C erhitzten Serums, in der Kontrollprobe dagegen in Gegenwart von NaCl-Lösung. Nachdem Agglutination eingetreten war, wurde in beiden Proben der Agglutinationswert der oberen Flüssigkeit resp. die Menge des absorbierten Agglutinins bestimmt. Die Menge des erhitzten Serums war in dieser Probe 10mal größer als diejenige des aktiven; im Falle der Anwesenheit von Synagglutinoiden müßten diese Körper ebenso von den Bakterien gebunden werden, wie die Agglutinine und zwar entsprechend ihren relativen Mengenverhältnisse, d. h. in unserem Fall würden die Synagglutinoide  $\frac{1}{10}$ , die Agglutinine  $\frac{1}{11}$  der absorbierten Menge ausmachen. Da aber bei größerer Konzentration des absorbierten Körpers der Absorptionskoeffizient sinkt, müßte die Menge des absorbierten Agglutinins bei Gegenwart von erhitztem Serum kleiner sein, als bei Gegenwart von NaCl-Lösung, d. h. der Agglutinationswert der oberen Flüssigkeit müßte im ersten Fall größer sein, als im zweiten. Das Resultat des in Tabelle XXXII wiedergegebenen Versuchs ist so wenig prägnant, daß es zu keinen Schlüssen berechtigt; in anderen Versuchen, wo die quantitativen Bedingungen für das Auftreten von deutlichen Differenzen noch weniger günstiger lagen, konnte überhaupt kein Unterschied festgestellt werden.

Tabelle XXXII. (Prot. No. 61. 3. Jan. 1904.)

Typhusserum v. Pf. No. 37. 30. Nov. 1903. Dasselbe 1 Std. auf 75° erh. (Verd.  $\frac{1}{10}$ ). Agarauflschw. v. B. typhi Z. Resultat nach 2 u. 4 Std.

Obere Flüss. auf Verd. des akt. Ser. berechnet	O. Fl.	Erh. Ser. Tr. 100 Akt. Ser. „ 1 Physiol. NaCl Tr. 15 Bakt. Aufschw. Tr. 4	O. Fl.	Erh. Ser. Tr. 0 Akt. Ser. Tr. 1 Phys. NaCl Tr. 115 Bakt. Aufschw. Tr. 4
S. $\frac{1}{150}$	k.	u. v. ?	k.	u. v. ?
$\frac{1}{200}$	k.	st. Sp.	k.	st. Sp.
$\frac{1}{300}$	k.	st. Sp.	k.	Sp. ?
$\frac{1}{500}$	k.	Sp.	k.	k.
$\frac{1}{750}$	k.	Sp. ?	k.	k.
$\frac{1}{1000}$	k.	k.	k.	k.

Nicht uninteressant ist es, darauf hinzuweisen, daß wir auch bei den Aktivierungsversuchen mit Exsudaten dasselbe Verhalten der bei zu hohen Temperaturen inaktivierten Sera haben feststellen können.

Zu ähnlichen Schlußfolgerungen bezüglich der Umwandlungen des Agglutinins bei hohen Temperaturen kommen in ihrer unlängst veröffentlichten Arbeit Buxton und Vaughan. Da ihre Versuche mit Kaninchentyphusserum angestellt wurden, finden diese Forscher in Uebereinstimmung mit der oben hervorgehobenen größeren Resistenz der Kaninchenagglutinine, daß sie bei  $70-75^{\circ}$  in Agglutinoide übergehen, um bei  $80-85^{\circ}$  völlig zerstört zu werden. Bezüglich der Technik der Versuche von Buxton und Vaughan möchte ich jedoch bemerken, daß die ungenügende Berücksichtigung quantitativer Verhältnisse die Beweiskraft dieser Versuche zum Teil einschränkt. Denn, obgleich sie in Uebereinstimmung mit Eisenberg und Volk die Notwendigkeit hervorheben, stärkere Konzentrationen des erhitzten Serums zu verwenden, kann die von ihnen verwendete Serumverdünnung  $1/100$  meines Erachtens ungenügend sein und eventuell eine schwache Hemmungsfähigkeit nicht hervortreten lassen, die vielleicht bei Verwendung der Verdünnung  $1/10$  zum Vorschein gekommen wäre. Andererseits scheint mir wieder der Zusatz aktiven Serums ein zu hoher zu sein ( $= 20$  Ag.-E.), da behufs Eruierung schwacher Hemmungsfähigkeit ein solcher von 1 bis 2 Ag.-E. angezeigt erscheint. Endlich kommt es mir vor, daß bei der theoretischen Deutung dieser Erscheinungen die Möglichkeit einer Syn- und Epagglutinoidbildung von den Verff. mit Unrecht nicht berücksichtigt wird, indem sie nur die Zerstörung der Agglutinoide in Betracht ziehen.

Wie schon oben bei Besprechung der Hemmungserscheinungen in frischen Seris, so ist auch hier zu bemerken, daß die Art der Agglutinine auf die Hemmungsfähigkeit der erhitzten Sera einen Einfluß hat. So sehen wir, daß mit Ruhrserum vom Pferd eine Hemmung sich leicht erzielen läßt, während sie mit Typhusserum derselben Herkunft viel schwieriger zu erlangen ist. Inwiefern dabei die Agglutinine an sich und inwiefern die Bakterienart in Betracht kommt, ließe sich vielleicht durch Vergleich von Ruhrseris von verschiedenen Tierspecies feststellen, wozu ich bis jetzt noch keine Gelegenheit hatte.

Die Untersuchungen von Ehrlich und Morgenroth haben ergeben, daß Immunkörper, die von verschiedenen Tierarten stammen und gegen dieselben Antigene gerichtet sind, biologische Differenzen aufweisen, d. h. nach Ehrlich'scher Nomenklatur Kombinationen verschiedener nur zum Teil identischer Haptine darstellen können. Man müßte sich also die Frage vorlegen, ob es nicht gelingen würde, mittels der Proagglutinoidhemmung solche spezifische Artunterschiede zwischen Agglutininen verschiedener Herkunft nachzuweisen. In einem solchen Versuch müßten natürlich vor allem die quantitativen Verhältnisse berücksichtigt werden, d. h. es müßte festgestellt werden, ob bei Verwendung derselben Menge inaktivierten Serums einer Tierart (hier vom Pferd) eine Hemmung gegenüber derselben Menge aktiven Agglutinins von derselben Art (Pferd), wie von einer anderen Art (Kaninchen) zu erlangen ist. Im Versuch kommt ein ausgesprochener Unterschied zum Vorteil des Pferdeserums (d. i. des homologen) zu Tage, d. h. das Pferdeagglutinoid hemmt eine größere Menge von Pferdeagglutinin als von Kaninchenagglutinin (166 Ag.-E. gegen 27 Ag.-E.), man kann dem-



nach gewisse Unterschiede im Aufbau resp. Rezeptorenapparat agglutinierender Sera von verschiedenen Tierarten annehmen (Tab. XXXIII).

Tabelle XXXIII. (Prot. No. 110. 22. Juni 1904.)

Ser. vom Pf. No. 37. 7. Okt. 1903. 1 Std. auf 65° erh. 3 Tr. Dichte Agaraufschw. v. B. typhi Z. 1 Tr. Nach 20 Std. wird zu jedem Röhrchen NaCl-Lösung und aktives Serum zugesetzt und zwar

Ser. Pf. No. 37. 15. Juni 1904 (Ag.-W. = 100 000 Ag. E.)				Ser. Kan. b. 21. Juni 1904 (Ag.-W. = 20 000 Ag.-E.)			
$\frac{1}{60000} = 1,6$	Ag.-E.	k.	k.	$\frac{1}{30000} = 1$	Ag.-E.	k.	k.
$\frac{1}{30000} = 3,2$	"	k.	k.	$\frac{1}{10000} = 2$	"	k.	k.
$\frac{1}{20000} = 5$	"	k.	k.	$\frac{1}{5000} = 4$	"	k.	k.
$\frac{1}{12000} = 8,5$	"	k.	k.	$\frac{1}{3000} = 6,7$	"	k.	k.
$\frac{1}{8000} = 12,5$	"	k.	k.	$\frac{1}{1500} = 13,4$	"	k.	k.
$\frac{1}{5000} = 20$	"	k.	k.	$\frac{1}{1000} = 20$	"	k.	k.
$\frac{1}{3000} = 33$	"	k.	k.	$\frac{1}{750} = 27$	"	k.	Sp.
$\frac{1}{1500} = 67$	"	k.	k.	$\frac{1}{600} = 33$	"	k.	u. v.?
$\frac{1}{1000} = 100$	"	k.	k.	$\frac{1}{400} = 50$	"	k.	u. v.
$\frac{1}{600} = 166$	"	k.	k.	$\frac{1}{300} = 67$	"	k.	u. v.
$\frac{1}{400} = 250$	"	k.	u. v.	$\frac{1}{200} = 100$	"	Fl.?	u. v.
$\frac{1}{250} = 400$	"	Fl.	u. v.				

Denselben Gedankengang weiter verfolgend, suchte ich festzustellen, ob Agglutinoide der Immunsera die Wirkung von Normalagglutininen von derselben oder von einer anderen Tierart und umgekehrt und so-dann, ob inaktivierte Normalagglutinine die Wirkung von aktiven hemmen. Die Versuche gaben auf alle diese Fragen eine bejahende Antwort.

Tabelle XXXIV. (Prot. No. 46, 47. 29. Nov. 1903.)

Ser. v. Pf. No. 37. 7. Okt. 1903. 1 Std. auf 62° C erh. Normales Pf. Ser. No. 31. 22. Nov. 1903. Norm. Kalbser. 20. Nov. 1903. Normales Schweineser. alt. Agaraufschw. v. B. typhi Z.

Tropfen				Pferdeserum		Kalbserum		Schweineser.	
Erhitzt. Ser.	Aktiv. Ser.	Phys. NaCl	Bakt. Aufschw.	Resultat n.		Resultat n.		Resultat n.	
				2 Std.	24 Std.	2 Std.	24 Std.	2 Std.	24 Std.
12 = $\frac{2}{5}$	15 = $\frac{1}{3}$	0	3	k.	k.	k.	st. Sp.	k.	Sp.?
3 = $\frac{1}{10}$	15 = $\frac{1}{2}$	9	3	k.	k.	k.	st. Sp.	k.	Sp.?
1 = $\frac{1}{20}$	15 = $\frac{1}{2}$	11	3	k.	k.	k.	st. Sp.	k.	Sp.?
3 = $\frac{1}{100}$	15 = $\frac{1}{2}$	9	3	k.	st. Sp.	k.	u. v.	k.	Sp.?
1 = $\frac{1}{200}$	15 = $\frac{1}{2}$	11	3	Fl.	u. v.	f. Fl.?	u. v.	k.	st. Sp.
0	15 = $\frac{1}{2}$	12	3	u. v.	v.	u. v.	v.	Sp.	f. v.
0	0	27	3	k.	k.	—	—	—	—

Tabelle XXXV. (Prot. No. 47a. 6. Dez. 1903.)

Altes normales Schweineserum. Dasselbe  $\frac{1}{2}$  Std. auf 63° erh. Agaraufschw. B. typhi Z.

Tropfen				Resultat nach	
Erhitzt. Ser.	Aktiv. Ser.	Phys. NaCl	Bakt.-Aufschw.	2 Std.	24 Std.
15 = $\frac{1}{2}$	12 = $\frac{2}{5}$	0	3	k.	f. v.
15 = $\frac{1}{2}$	6 = $\frac{1}{5}$	6	3	k.	u. v.?
15 = $\frac{1}{2}$	3 = $\frac{1}{10}$	9	3	k.	Sp.
15 = $\frac{1}{2}$	0	12	3	k.	Sp.
0	3 = $\frac{1}{10}$	24	3	k.	u. v.

Tabelle XXXVI. (Prot. No. 47a. 6. Dez. 1903.)  
 Norm. Pf. Ser. No. 12. Dasselbe  $\frac{1}{2}$  Std. auf 63° C erh. Agaraufschw.  
 v. B. typhi Z.

Tropfen				Resultat nach	
Erhitzt. Ser.	Aktiv. Ser.	Phys. NaCl	Bakt.-Aufschw.	2 Std.	24 Std.
15 = $\frac{1}{2}$	12 = $\frac{2}{5}$	0	3	k.	k.
15 = $\frac{1}{2}$	6 = $\frac{1}{5}$	6	3	k.	k.
15 = $\frac{1}{2}$	3 = $\frac{1}{10}$	9	3	k.	k.
15 = $\frac{1}{2}$	2 = $\frac{1}{15}$	10	3	k.	k.
15 = $\frac{1}{2}$	1 = $\frac{1}{30}$	11	3	k.	k.
15 = $\frac{1}{2}$	0	12	3	k.	k.
0	1 = $\frac{1}{30}$	26	3	k.	f. v.

Ueber die hemmende Wirkung inaktivierter Normalsera hat auch Scheller positive Resultate mitgeteilt. Ich möchte jedoch bemerken, daß weder meine Versuche, noch diejenigen von Scheller zur Annahme der Identität der Normal- und Immunagglutinine berechtigen, ja nicht einmal einer völligen Identität ihrer haptophoren Gruppen berechtigen. Um letztere zu beweisen, müßten die Versuche exakt quantitativ ausgeführt werden und müßten zeigen, daß eine bestimmte Menge von Normalagglutinoiden im stande ist, die Wirkung derselben Menge von Normal- und Immunagglutininen zu hemmen, ein Nachweis, der noch nicht geführt worden ist.

Die wichtigsten, den Hemmungseffekt bestimmenden Faktoren sind zweifellos die Zeit und die quantitativen Verhältnisse der beteiligten Körper. In den Bailschen Versuchen war die für den Hemmungseffekt günstigste Versuchsanordnung gewählt worden, es wurden nämlich zunächst die Bakterien mit inaktiviertem Serum gesättigt und dann erst das aktive Serum zugesetzt. In den Versuchen von Eisenberg und Volk kam der Zeitfaktor insofern zum Ausdruck, daß es bei gleichzeitigem Zusatz von aktivem und inaktiviertem Serum nicht gelingen wollte, eine vollständige Hemmung hervorzubringen. Dagegen erwies sich dies als möglich bei Verwendung von Dysenterieagglutinin (Shiga), Typhuskoagulin (Pick, Eisenberg) und Eiweißpräzipitin (Eisenberg), wo die Hemmungserscheinungen überhaupt leichter auftreten. Doch konnte ich auch hier feststellen, daß die Zeitverhältnisse deutliche Unterschiede im Hemmungseffekt bedingen können. Gegenwärtig möchte ich dieser bis jetzt nur nebenbei behandelten Frage mehr Aufmerksamkeit widmen. Im Hemmungsprozeß sind drei Körper beteiligt: das inaktivierte, das aktive Serum und die Bakterien. Es sind nun bei ihrem Aufeinanderwirken folgende drei Zeitkombinationen möglich: 1) zuerst wirkt inaktiviertes Serum auf die Bakterien ein, sodann aktives, 2) beide Sera wirken gleichzeitig auf die Bakterien ein, 3) zuerst kommt aktives Serum zur Wirkung, sodann das inaktivierte. Aus den Untersuchungen von Eisenberg und Volk ist bekannt, daß die Verbindung von Agglutinin und agglutinierbarer Substanz sehr schnell eintritt (untere Zeitgrenze nicht bestimmbar). Wenn also die Agglutination ein ganz irreversibler Prozeß wäre, müßte die dritte Möglichkeit ganz ausgeschlossen erscheinen; wäre sie dagegen vollkommen reversibel, so

müßte bei der dritten Kombination Hemmung ebenso eintreten, wie bei der ersten, d. h. es müßte in allen drei Fällen die Reihenfolge der Zusätze und die sie trennende Zeit für den Hemmungseffekt belanglos sein. Das Experiment zeigt nun, daß keine von beiden Eventualitäten zutrifft, indem zwar bei allen drei Anordnungen Hemmung zu erreichen ist, jedoch die Reihenfolge der Zusätze und die sie trennende Zeit über das Resultat der Hemmung entscheiden. Tab. XXXVII—XL werden das Gesagte am besten illustrieren.

Tabelle XXXVII. (Prot. No. 19, 19a. 15 Nov. 1903.)  
Ser. vom Pf. No. 37. 7. Okt. 1903. Dasselbe 1 Std. auf 62—63°  
erh. Agaraufschw. von B. typhi Z.

## A.

Inaktiviertes und aktives Serum wirken gleichzeitig ein.

Tropfen				Resultat nach	
Aktiv. Ser.	Inakt. Ser.	Phys. NaCl	Bakt.-Aufschw.	2 Std.	24 Std.
1 = $\frac{1}{400}$	35 = $\frac{1}{57}$	0	4	k.	k.
1 = $\frac{1}{400}$	20 = $\frac{1}{100}$	15	4	k.	Sp.?
1 = $\frac{1}{400}$	10 = $\frac{1}{200}$	25	4	Sp.	st. Sp.
1 = $\frac{1}{400}$	7 = $\frac{1}{800}$	28	4	st. Sp.	u. v.
1 = $\frac{1}{400}$	5 = $\frac{1}{450}$	30	4	st. Sp.	u. v.
1 = $\frac{1}{400}$	3 = $\frac{1}{600}$	32	4	u. v.	f. v.
1 = $\frac{1}{400}$	2 = $\frac{1}{1000}$	33	4	u. v.	f. v.
1 = $\frac{1}{400}$	0	25	4	f. v.	v.
0	0	36	4	k.	k.

## B.

Aktives Serum wirkt zuerst auf die Bakterien ein (20 Min. bei 37° C); nach dieser Zeit werden zu den Röhren, in denen eben Flocken sichtbar sind, physiol. NaCl-Lösung und erhitztes Serum zugesetzt.

Tropfen				Tropfen		Resultat nach	
Akt. Ser.	Ph. NaCl	B.-Aufschw.		Inakt. Ser.	Ph. NaCl	2 Std.	24 Std.
1 = $\frac{1}{400}$	15	4	nach 20 Std.	20 = $\frac{1}{2}$	0	k.	k.
1 = $\frac{1}{400}$	15	4		10 = $\frac{1}{4}$	10	k.	Sp.
1 = $\frac{1}{400}$	15	4		5 = $\frac{1}{8}$	15	Sp.	u. v.?
1 = $\frac{1}{400}$	15	4		2 = $\frac{1}{20}$	18	st. Sp.	u. v.
1 = $\frac{1}{400}$	15	4		1 = $\frac{1}{40}$	19	u. v.	f. v.
1 = $\frac{1}{500}$	15	4		4 = $\frac{1}{100}$	16	u. v.	f. v.
1 = $\frac{1}{400}$	15	4		2 = $\frac{1}{800}$	18	f. v.	v.
1 = $\frac{1}{400}$	15	4					

Der Vergleich von Tabelle A und B zeigt, daß angesichts derselben Menge von Bakterien und aktivem Serum vom inaktivierten Serum die Verdünnung  $\frac{1}{57}$  zur Erlangung vollständiger Hemmung genügt, wenn beide Sera gleichzeitig wirken, daß dagegen eine Verdünnung von  $\frac{1}{2}$  sich als nötig erweist, wenn nach vorheriger Einwirkung des aktiven Serums das inaktive in einem Augenblick zugesetzt wird, wo der erste

Zusatz bereits seine Wirkung durch Flockenbildung manifestiert. Daß auch bei Einhaltung derselben Reihenfolge der Zusätze die sie trennende Zeit eine gewisse Rolle spielt, zeigen die in Tabelle XXXVIII—XL wiedergegebenen Versuche.

Tabelle XXXVIII. (Prot. No. 211. 30. März 1905.)

Serum vom Pf. No. 37. 2 Std. auf 68° erh. Ser. vom Pf. No. 11 1904 nicht erh. Agaraufschw. von B. typhi Z. Zuerst wirkt das erhitzte Serum auf die Bakterien ein, sodann nach Ablauf von 10 Min., 1 Std., 10 Std. das aktive Serum. Resultat nach 4 Tagen!

Tropfen				Zusatz des akt. Serums nach			
Erh. Ser.	Phys. NaCl	Bakt.-Aufschw.	Akt. Ser.	Phys. NaCl	10 Min.	1 Std.	10 Min.
4 = $\frac{1}{30}$	15	1	1 = $\frac{1}{40960}$	19	k.	k.	k.
4 = $\frac{1}{30}$	15	1	2 = $\frac{1}{20480}$	18	k.	k.	k.
4 = $\frac{1}{30}$	15	1	4 = $\frac{1}{10240}$	16	k.	k.	k.
4 = $\frac{1}{30}$	15	1	8 = $\frac{1}{5120}$	12	k.	k.	k.
4 = $\frac{1}{30}$	15	1	16 = $\frac{1}{2560}$	4	k.	k.	k.
4 = $\frac{1}{30}$	15	1	1 = $\frac{1}{1280}$	19	Sp.	k.	k.
4 = $\frac{1}{30}$	15	1	2 = $\frac{1}{640}$	18	Sp.	k.	k.
4 = $\frac{1}{30}$	15	1	4 = $\frac{1}{320}$	16	Sp.	k.	k.
4 = $\frac{1}{30}$	15	1	8 = $\frac{1}{160}$	12	st. Sp.	Sp.	k.
4 = $\frac{1}{30}$	15	1	16 = $\frac{1}{80}$	4	st. Sp.	Sp.	Sp.?
4 = $\frac{1}{30}$	15	1	1 = $\frac{1}{40}$	19	u. v.	Sp.	Sp.
4 = $\frac{1}{30}$	15	1	2 = $\frac{1}{20}$	18	u. v.	st. Sp.	Sp.
4 = $\frac{1}{30}$	15	1	4 = $\frac{1}{10}$	16	f. v.	u. v.	st. Sp.
4 = $\frac{1}{30}$	15	1	8 = $\frac{1}{5}$	12	—	—	st. Sp.
4 = $\frac{1}{30}$	15	1	16 = $\frac{2}{5}$	4	—	—	st. Sp.
4 = $\frac{1}{30}$	5	1	0	20	k.	—	—
0	19	1	0	20	k.	—	—

Tabelle XXXIX. (Prot. No. 222a. 14. April 1905.)

Ruhrserum (Pf.) aus d. Labor. L. W. Gans  $1\frac{1}{2}$  Std. auf 62° C erh. Ruhrserum vom Pf. No. 2 1904 nicht erh. B. dysenteriae St. Nepustil dichte Agaraufschw. Jedes Röhrchen enthält Tr.: Erh. Ser. 4 =  $\frac{1}{80}$ , Bakt.-Aufschw. 2; nach 6, 10, 30 Min.,  $2\frac{1}{2}$ , 7, 24 Std. werden dazu verschiedene Mengen von akt. Ser. und NaCl-Lösung zur Ergänzung auf 40 Tropfen zugesetzt.

Tropfen		Das aktive Serum wurde zugesetzt nach										Kontrolle	
Akt. Ser.		0 Min.	10 Min.	30 Min.	$2\frac{1}{2}$ Std.	7 Std.	24 Std.	Erh. S. = 0					
8 = $\frac{1}{5120}$	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	Sp.	u. v.				
16 = $\frac{1}{2560}$	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	Sp.	u. v.				
1 = $\frac{1}{1280}$	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	st. Sp.	u. v. +				
2 = $\frac{1}{640}$	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	st. Sp.	u. v. +				
4 = $\frac{1}{320}$	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	u. v. +	f. v.				
8 = $\frac{1}{160}$	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	f. v.	v.				
16 = $\frac{1}{80}$	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	v.	v.				
1 = $\frac{1}{40}$	u. v.?	Sp.?	k.	k.	k.	k.	k.	v.	v.				
2 = $\frac{1}{20}$	u. v.?	u. v. +	Sp.?	Sp.?	k.	k.	k.	v.	v.				
4 = $\frac{1}{10}$	f. v.	v.	Sp.?	Sp.?	k.	k.	k.	v.	v.				
8 = $\frac{1}{5}$	v.	v.	Sp.	u. v. +	Sp. u. v. +	k.	Sp.?	k.	v.				
16 = $\frac{2}{5}$	v.	v.	st. Sp.	f. v.	Sp. u. v. +	Sp.??	u. v.	Sp. u. v.	Sp.??	Sp.	v.	v.	
0	k.	k.	—	—	—	—	—	k.	k.				

Tabelle XL. (Prot. No. 212. 3. April 1905.)

Ser. vom Pf. No. 37. 30. Okt. 1903. 2 Std. auf 68° erh. Ser. vom Pf. No. 11 1904 nicht erh. Agarauflschw. v. B. typhi Z. Erh. Ser. + Bakt. + NaCl, sodann nach Ablauf von 7,5 Min., 30 Min., 2 Std., 16 Std. Zusatz von akt. Serum.

Tropfen				Aktives Serum zugesetzt nach							
Erh. Ser.	Phys. NaCl	Bakt. Auf.	Akt. Ser.	7,5 Min.		30 Min.		2 Std.		16 Std.	
2 = $\frac{1}{80}$	36	1	1 = $\frac{1}{40000}$	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
2 = $\frac{1}{60}$	35	1	2 = $\frac{1}{20480}$	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
2 = $\frac{1}{60}$	33	1	4 = $\frac{1}{10240}$	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
2 = $\frac{1}{60}$	29	1	8 = $\frac{1}{5120}$	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
2 = $\frac{1}{60}$	21	1	16 = $\frac{1}{2560}$	k.	Sp.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
2 = $\frac{1}{60}$	36	1	1 = $\frac{1}{1280}$	st. Sp.	u. v.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
2 = $\frac{1}{60}$	35	1	2 = $\frac{1}{640}$	u. v.	u. v.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
2 = $\frac{1}{60}$	33	1	4 = $\frac{1}{320}$	u. v.	u. v.	k.	Sp.?	k.	k.	k.	k.
2 = $\frac{1}{60}$	29	1	8 = $\frac{1}{160}$	u. v.	Sp.	k.	Sp.	k.	Sp.?	k.	k.
2 = $\frac{1}{60}$	21	1	16 = $\frac{1}{80}$	u. v.	u. v.	Sp.	st. Sp.	k.	Sp.?	k.	Sp.??
2 = $\frac{1}{60}$	36	1	1 = $\frac{1}{40}$	f. v.	f. v.	st. Sp.	st. Sp.	Sp.?	Sp.?	k.	Sp.??
2 = $\frac{1}{60}$	35	1	2 = $\frac{1}{20}$	f. v.	f. v.	st. Sp.	u. v.	Sp.?	Sp.	k.	Sp.??
2 = $\frac{1}{60}$	33	1	4 = $\frac{1}{10}$	f. v.	f. v.	u. v.	f. v.	Sp.	st. Sp.	Sp.?	Sp.
2 = $\frac{1}{60}$	29	1	8 = $\frac{1}{5}$	f. v.	f. v.	u. v.	f. v.	Sp.	st. Sp.	k.	Sp.
2 = $\frac{1}{60}$	21	1	16 = $\frac{1}{251}$	u. v.	u. v.	st. Sp.	u. v.	Sp.?	Sp.	k.	Sp.?
2 = $\frac{1}{60}$	37	1	0	k.	k.	—	—	—	—	—	—
0	38	1	1 = $\frac{1}{40680}$	f. v.	f. v.	—	—	—	—	—	—
0	37	1	2 = $\frac{1}{20480}$	f. v.	f. v.	—	—	—	—	—	—
0	35	1	4 = $\frac{1}{10240}$	v.	v.	—	—	—	—	—	—
0	31	1	8 = $\frac{1}{5120}$	v.	v.	—	—	—	—	—	—
0	23	1	16 = $\frac{1}{2560}$	v.	v.	—	—	—	—	—	—
0	39	1	0	v.	v.	—	—	—	—	—	—

(Fortsetzung folgt.)

Nachdruck verboten.

## Ueber die Agglutinabilität von Bakterien, besonders des B. typhi.

[Aus dem staatl. serotherapeutischen Institut in Wien  
(Vorstand: Prof. R. Paltauf).]

Von Dr. O. Porges und Dr. A. Prantschoff.

Die spezifische Agglutination hat sich für die Bakterienbestimmung als wertvolles Hilfsmittel, ja in manchen Fällen als ausschlaggebende Differenzierungsmethode erwiesen. Dementsprechend muß es auch von praktischem Interesse sein, die Grenzen und theoretischen Voraussetzungen ihrer Anwendbarkeit kennen zu lernen. Eine grundlegende Bedingung, die bei der Serodiagnostik einer Bakterienkultur vorausgesetzt werden muß, ist eine homogene, haltbare Suspension und dabei doch ein hinreichendes Ausflockungsvermögen. Während nun diese Voraussetzungen bei der Mehrzahl der Bakterienarten in der Regel erfüllt sind, müssen sie bei anderen erst durch besondere Kunstgriffe herbeigeführt werden. (Die erste Bedingung fehlt z. B. bei den Diphtherie- und Tuberkelbacillen, die zweite bei den Kapselbakterien.) Aber auch bei Bakterien, die in der Regel einer Agglutinationsprüfung

1) Die in dieser Reihe auftretende partielle Hemmung ist auf das aktive Serum (Verd.  $\frac{2}{5}$ ) zurückzuführen.

leicht zugänglich sind, erweist sich die Agglutinationsbestimmung mitunter unverlässlich oder undurchführbar. So sind in der Literatur Fälle verzeichnet, in denen Inagglutinabilität der untersuchten Kultur die Ursache von Irrtümern und Fehldiagnosen wurde. Diese Beobachtungen schränken die Anwendbarkeit der Serodiagnostik für praktische Zwecke erheblich ein, denn bei der Untersuchung von seuchenverdächtigem Material ist z. B. die Anwesenheit eines bestimmten Krankheitserregers durch negative Agglutinationsreaktion der isolierten Stämme noch nicht ausgeschlossen. Eine Agglutinationsbestimmung ist weiter in den Fällen unmöglich, wo die erste der oben postulierten Bedingungen nicht zutrifft, so bei den „spontan“ agglutinierenden Kulturen. Eine hierher gehörige Beobachtung ist jüngst von Friedberger<sup>1)</sup> und Lürssen mitgeteilt worden.

Diesem Gedankengang zufolge erschien es uns als eine lohnende Aufgabe, die Agglutinabilität der Bakterien einer eingehenderen Untersuchung zu unterziehen und auf Grund der gewonnenen Erkenntnis die Anwendung der Serodiagnostik zu erweitern. Unsere Untersuchungen richteten wir zunächst auf die Arten, für die die Agglutinationsdiagnostik in der Praxis eine ausgedehntere Anwendung gefunden hat, auf *B. typhi*, *Vibrio cholerae*, *B. dysenteriae* u. a.

## I. Die Spontanagglutination.

Die Erscheinung der Spontanagglutination gehört nicht nur in den Bereich der hier zu erörternden Fragen, sondern ist auch für das Verständnis des Begriffes der Agglutinabilität von großer Bedeutung. Daher mögen unsere diesbezüglichen Versuche zunächst auseinandergesetzt werden.

Die Spontanagglutination wurde unseres Wissens zuerst von Nicolle eingehender beschrieben; andere Beobachter waren Valagussa, Hamburger, Kirstein u. A.<sup>2)</sup> Das Phänomen gleicht in seiner Erscheinungsform vollständig der typischen Serumagglutination, es besteht in der Bildung von feinsten Flöckchen, die sich allmählich zu größeren Aggregaten vereinigen und schließlich zu Boden sinken. Schon die ersten Beobachter hatten ermittelt, daß die Erscheinung nur bei Gegenwart einer gewissen Salzmenge zu stande kommt, in destilliertem Wasser aber ausbleibt. (Der Ausdruck Spontanagglutination erscheint demnach nicht ganz zutreffend, Friedberger und Lürssen hatten jüngst die Bezeichnung Pseudoagglutination eingeführt, er mag aber hier, nachdem er bereits eingebürgert ist, weiterhin Verwendung finden.) Das Wesen der Erscheinung wurde bisher nicht eingehender untersucht, von seiten der oben erwähnten Autoren aber vermutungsweise als physikalischer Ausflockungsvorgang gedeutet. Ähnliche Anschauungen entwickelte auch jüngst Levi della Vida<sup>3)</sup>. Neisser und Friedemann, sowie Bechhold<sup>4)</sup> sprechen die Möglichkeit aus, daß den spontan aggluti-

1) Friedberger und Lürssen, Deutsche med. Wochenschr. 1905. p. 1597.

2) Nicolle, Soc. de biol. 12. Dez. 1898. Ann. de l'Inst. Past. Mai 1898. Valagussa, Ann. d'Igiene speriment. Vol. X. Fasc. 1. Hamburger, Wiener klin. Wochenschr. 1903. No. 4. Kirstein, Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XLVI. 1904. p. 229. Friedberger und Lürssen l. c.

3) Levi della Vida, Annl. d'Igiene speriment. Vol. XV. 1905. Fasc. 3.

4) Neisser und Friedemann, Münch. med. Wochenschr. 1904. No. 11 u. 19. Bechhold, Zeitschr. f. physik. Chemie. Bd. XLVIII. 1904. p. 385.

nierenden Bakterien eine Substanz (vielleicht Eiweiß) fehlt, die bei der normalen Kultur die Ausflockung hemmt, deren Wirkungsweise sie mit der bekannten ausflockungshemmenden Eigenschaft der Gelatine in Parallele setzen. Später konnte der eine von uns<sup>3)</sup> den Nachweis erbringen, daß sich bei jeder Kultur durch Hydrolyse des Proteins Spontanagglutination herbeiführen läßt, daß überhaupt Veränderungen des Bakterienproteins zu Veränderungen der Stabilität der Suspension führen. Auf diese Versuche, sowie die Ausführungen von Neisser, Friedemann und Bechhold gestützt, wurde die Annahme gemacht, daß der Suspensionszustand der Bakterien durch ihre Eiweißkörper bedingt ist, die die anderen Bakterienbestandteile gewissermaßen in Schwebe erhalten. Nachdem es sich weiter gezeigt hatte, daß die Suspensionsstabilität, wie sie zahlenmäßig durch die Fällungsgrenzen gegen Ammonsulfat zum Ausdruck kommt, mit der Agglutinabilität vollständig parallel geht, lag die Schlußfolgerung nahe, daß die Agglutinabilität von der Menge und physikalisch-chemischen Beschaffenheit der Bakterienproteine abhängig ist. In der Tat fallen die inagglutinablen Arten (z. B. die Bakterien der Friedländer-Gruppe) durch die Bildung von Proteinhüllen (Schleimkapseln) auf, und es gelingt auch, durch partielle Hydrolyse der Proteine diese Bakterien der Agglutination zugänglich zu machen<sup>4)</sup>.

Für die vorliegende Frage ergibt sich nun aus den dargelegten Anschauungen die Annahme, daß die spontan agglutinierenden Bakterien, die im Gegensatz zu normalen Bakterien schon bei geringen Salzkonzentrationen ausflocken, nur geringe Proteinmengen bilden, so daß die anderen Bestandteile ihr Verhalten fällenden Agentien gegenüber beherrschen. Spontan ausflockende Bakterien sind also mit inerten Partikelchen, normale Bakterien mit Eiweißkörpern hinsichtlich ihrer Suspensionsstabilität zu vergleichen.

Diese Anschauungen waren die Richtschnur für unsere Versuche, die darauf ausgingen, Wesen und Entstehung der Spontanagglutination dem Verständnisse näherzubringen.

#### a) Wirkung des Agglutinins auf spontan agglutinable Bakterien.

Ueber die Einwirkung des Agglutinins auf spontan ausflockende Bakterien existiert unseres Wissens in der Literatur nur eine Angabe von Hamburger<sup>5)</sup>, der zufolge bei einer spontan ausflockenden Cholerakultur, die nach Passage durch agglutininhaltige Bouillon die Eigenschaft der Spontanagglutination angenommen hatte, keine Agglutininbindung sich nachweisen ließ. Unsere eigenen Versuche mit einer spontan ausflockenden Cholerakultur, die zufällig unter alten Laboratoriumstämmen aufgefunden wurde, hatte das in nachfolgender Tabelle verzeichnete Resultat.

##### Versuch I.

##### Cholerapferdeimmunserum und Cholerakulturen.

Stamm	Serumverdünnung					Kontr.	Reihe
	500	1000	2000	4000	8000		
Normaler Cholerastamm	+	+	+	+	±	—	A
Spontan agglut. Cholerastamm	+	+	+	+	+	+	B

3) Porges, Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XL. 1905. p. 133.

4) Porges, Wiener klin. Wochenschr. 1905. No. 26.

5) Hamburger l. c.

Nunmehr werden die Bakterien ausgeschleudert, die restierende Flüssigkeit mit dem gleichen Volumen normaler Cholerakulturaufschwemmung versetzt. Es zeigt sich nun folgendes Resultat:

Stamm	Serumverdünnung					Kontr.	Reihe
	1000	2000	4000	8000	16 000		
Normaler Cholerastamm	±	±	Spur	—	—	—	A
" "	+	+	±	—	—	—	B

(Fortsetzung folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Ueber die Regeneration der Agglutinine nach Blutverlusten.

[Aus dem Institute für allgemeine und experimentelle Pathologie in Wien (Vorstand Prof. Paltauf).]

Von Privatdozent Dr. C. Jul. Rothberger, Assistent am Institute.

Mit 1 Kurve.

Im folgenden berichte ich über Versuche, welche zwei Fragen entscheiden sollten:

1) Findet eine Neubildung von Agglutinin statt, wenn man durch den Blutwechsel eine starke Verminderung desselben erzeugt? Für die Antitoxine wird unter Umständen bekanntlich eine Regeneration angenommen.

2) Im Anschlusse an die vorige Frage war ferner zu untersuchen, ob Aderlässe einen Einfluß auf die Agglutininbildung besitzen, d. h. ob die mit der Regeneration des entnommenen Blutes einhergehende erhöhte Tätigkeit der blutbildenden Organe auch in einer gesteigerten Bildung von Agglutininen zum Ausdruck kommt. Die Agglutinine werden ja ebenfalls als Produkte der Zelltätigkeit der blutbildenden Organe aufgefaßt.

Ueber die Wirkung des Aderlasses bei aktiv immunisierten Tieren oder mit anderen Worten über die Frage, ob nach starkem Verlust an Immunkörpern eine Regeneration eintritt, existieren jedoch nur wenige Angaben, welche sich überdies auf verschiedene Arten von Immunkörpern beziehen.

Ehe wir diese bisher erhobenen Befunde aufzählen, wollen wir uns die Kurve der Antikörperbildung nach der Injektion vergegenwärtigen, da diese für die Beurteilung der Wirkung des Aderlasses von Bedeutung ist.

Bekanntlich haben zuerst Brieger und Ehrlich auf den wellenförmigen Charakter der Kurve der Antikörperproduktion hingewiesen, indem sie zeigten, daß bei einer gegen Tetanus immunisierten Ziege auf neuerliche Toxininjektion zunächst ein starker Abfall des Antitoxingehaltes von Blut und Milch eintrat; dann folgte eine rapide Steigerung weit über den anfänglichen Schutzwert, dann, nachdem am 17. Tage das Maximum erreicht war, folgte erst rascher, dann langsamerer Abfall, bis sich der Antitoxingehalt am 29. Tage nach der Injektion fast wieder auf das ursprüngliche Niveau einstellte. Brieger und Ehrlich betonen, daß man demnach den konstanten Antitoxingehalt des Blutes erst 4–5 Wochen nach der Injektion ermitteln könne, daß es sich aber zur Er-



zielung möglichst hoher Immunitätswerte empfehle, auf dem Gipfel der Kurve gleich die 2. Injektion zu machen, da zu dieser Zeit am meisten Antitoxin im Blute sei und dann eine außerordentliche Steigerung zum 2. Gipfel zu erwarten sei.

Ähnliches fanden Salomonsen und Madsen bei Diphtheriepferden, ferner Dean, Morgenroth für die Antilabproduktion, Bulloch für Hämolysine, Forssman u. Lundström für das Botulismus-Antitoxin. Deutsch, welcher vorwiegend die Herkunft der Typhusantikörper studierte, fand, daß beim Meerschweinchen der Schutzwert des Serums am 4.—5. Tage nach der intraperitonealen Injektion auftrate und sein Maximum am 11.—12. Tage erreiche. Agglutinine traten am 3.—4. Tage nach der Injektion auf, das Maximum fiel auf den 10.—13. Tag. Deutsch betont das Auftreten großer individueller Schwankungen bei den einzelnen Tieren.

In eingehender Weise haben dann Jörgensen und Madsen den Verlauf der Typhus- und Choleraagglutininbildung bei aktiver und passiver Immunisierung studiert und auch hier analoge Verhältnisse gefunden wie Brieger und Ehrlich beim Tetanus. Bei einem aktiv immunisierten Kaninchen rief eine neuerliche Injektion rapiden Anstieg des Agglutiningehaltes hervor, welcher seinen Höhepunkt am 9. Tage nach der Injektion erreichte, dann folgte erst rapider, dann langsamerer Abfall, und am 25. Tage nach der Injektion hatte sich der Agglutiningehalt etwas unter den Ausgangspunkt eingestellt. Bei aktiv immunisierten Ziegen und Kaninchen rief Injektion einer starken Dosis Typhuskultur die von Brieger und Ehrlich gefundenen Schwankungen des Agglutiningehaltes des Blutes hervor, nur mit dem Unterschiede, daß hier das Maximum schon am 8.—10. Tage erreicht wurde und daß der Abfall des Agglutiningehaltes nach der Injektion der Typhuskultur weniger ausgesprochen war als der des Antitoxins bei Diphtherie und Tetanus. Die Verf. betonen ferner, daß trotz der großen individuellen Verschiedenheiten, welche der Verlauf der Agglutinincurve bei verschiedenen Kaninchen darbiete, doch das Maximum mit großer Regelmäßigkeit auf den 9. Tag falle, so daß also nur quantitative Verschiedenheiten vorliegen.

Ähnliches fanden Jörgensen und Madsen, wenn sie statt einer starken Dosis täglich kleine Mengen 24-stündiger Typhuskultur injizierten; doch zeigte es sich hier, daß trotz fortdauernder Injektionen nach Erreichung des Maximums doch der Abfall einsetzte.

Für die Bildung der Coli-Agglutinine fand Ernst Levin ganz analoge Gesetze, nur trat das Maximum erst am 17. Tage ein.

Es ist nun für die Beurteilung der Wirkung des Aderlasses auf die Antikörperbildung durchaus nicht gleichgültig, in welchem Stadium derselben das Blut entzogen wird, ein Umstand, auf den bisher keine Rücksicht genommen worden ist. Nur Salomonsen und Madsen wiesen darauf hin, daß der Anstieg des Antitoxingehaltes nach einem Aderlaß nicht sicher auf diesen letzteren bezogen werden könne, wenn das Intervall zwischen letzter Injektion und Aderlaß nur wenige Tage beträgt.

Die wenigen Angaben, welche sich auf die Wirkung der Aderlässe beziehen, sind folgende:

Roux und Vaillard behaupteten auf Grund ihrer Versuche an Kaninchen, daß sich das Tetanusantitoxin nach wiederholten Aderlässen regeneriere „et l'on peut extraire de ses vaisseaux en quelques jours une quantité de sang égale à la masse totale de ce liquide, sans que l'activité du sérum soit sensiblement diminué“. Salomonsen und

Madsen konnten diese Angaben bei diphtherieimmunisierten Pferden nicht bestätigen; sie fanden nach dem Aderlasse immer einen erst plötzlich, dann langsamer sich ausbildenden Abfall des Antitoxingehaltes des Blutes und der Milch und betonten, daß man den Pferden immer wieder Toxin injizieren müsse, wenn man starken Verlusten an Antitoxin durch die wiederholten Aderlässe vorbeugen wolle. Sie berichten ferner über 2 Versuche an Ziegen, in welchen sie, um den Reiz der akuten Anämie nach dem Aderlaß zu vermeiden, die entnommene Blutmenge teils durch Kochsalzlösung, teils durch antitoxinfreies Blut ersetzten. Beim ersten Versuch stieg der Antitoxingehalt nach der Operation wieder an, doch machen sich die Verff. selbst den Einwand, daß der Aderlaß zu früh nach der letzten Injektion vorgenommen worden sei. Die andere Ziege, in deren Serum der Schutzwert durch 15 Tage stationär geblieben war, machte innerhalb 50<sup>h</sup> 4 Blutwechsel durch, durch welche sie  $\frac{11}{12}$  ihres Blutes gegen antitoxinfreies Blut eintauschte. Bei diesem Tiere stieg nach dem letzten Aderlaß der Antitoxingehalt des Blutes stark an, es trat also sicher eine Neubildung von Antitoxin ein, welche dafür spricht, daß gewisse Zellen des Organismus unter dem Einflusse des Toxins eine andauernde sekretorische Funktion erworben haben. Seit der letzten Toxininjektion waren fast 3 Monate vergangen. In einer späteren Publikation betonten dieselben Verff. nochmals, daß der bei diphtherieimmunisierten Pferden nach dem Aderlaß auftretende Abfall des Antitoxingehaltes so stark sei, daß er durch die Blutverdünnung nicht erklärt werden könne, er müsse auf der schädlichen Wirkung der akuten Anämie beruhen. Der Verlust an Antitoxin war nach jedem großen Aderlaß ein definitiver. Rostowski berichtet über 2 Versuche an Kaninchen, die er mit Globulin und krist. Albumin vrbbehandelt hatte. Nach einem bis zu Krämpfen fortgesetzten Aderlaß trat starker und definitiver Verlust an Präzipitin ein, welches auch in den nächsten Wochen nicht wieder ersetzt wurde. Dagegen wies Pfeiffer darauf hin, daß die Produktion der Choleraimmunkörper durch kleine Aderlässe begünstigt werde (unveröffentlichte Versuche Friedbergers) und endlich fanden Friedberger und Dorner, daß auch die Hämolysinbildung durch kleine Aderlässe gesteigert, durch große geschwächt werde.

(Schluß folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Ueber natürliche Wachstumshemmung der Bakterien.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Utrecht.]

Zweite Mitteilung.

Von Prof. Dr. C. Eijkman.

(Schluß.)

Meine eigene Aussage, daß sich die Hemmungsstoffe in Bouillonkulturen nicht nachweisen ließen, gründete sich hauptsächlich auf die wiederholt gemachte Beobachtung, daß sich die klar abgehobene Flüssigkeit der zentrifugierten Bouillonkultur beim Aufenthalt im Brutofen immer wiederum trübte, gleichviel welchen Alters die Bouillonkultur war, wovon ausgegangen wurde. Man vergleiche hierzu die in der untenstehenden Tabelle I wiedergegebenen Resultate der von mir ausgeführten Zählungen, die keines weiteren Kommentars bedürfen. Es sei noch hinzugefügt, daß die erhitzte und danach wieder geimpfte Zentrifugierflüssigkeit sich bei der Aufbewahrung im Brutofen nicht stärker trübte

als die nicht erhitzte, daß also zur Annahme thermolabiler Hemmungsstoffe in der Bouillonkultur kein triftiger Grund vorhanden ist. Wir

Tabelle I.  
Anzahl Bakterien pro cmm in einer Bouillon-  
kultur des B. coli bei 37°.

Alter der Kultur	Direkte mikroskopische Zählung	Plattenverfahren
3 Tage	168 700	132 600
4 „	499 900	389 300
5 „	832 000	364 600
6 „	904 000	387 000
Zentrifugiert:		
6 Tage	22 900	5 360
7 „	160 400	80 500
8 „	186 600	154 500
9 „	208 300	179 200

haben sogar eine klar zentrifugierte Bouillonkultur durch Verdunstung bei 40° bis auf etwa das Viertel des ursprünglichen Volums einengen können, in der Absicht, die hypothetischen Hemmungsstoffe zu konzentrieren, ohne daß die nachträgliche Trübung ausblieb.

Alles in allem glauben wir uns folglich zu dem Schlusse berechtigt, daß die Vorstellung der Autoren über die Bildung sehr kräftig wirkender thermolabiler Hemmungsstoffe in Bouillonkulturen eine irrthümliche ist. Daß sie (die Bildung) nicht gänzlich stattfindet, will ich nicht behaupten, nur daß sie für Bouillon bis jetzt noch nicht nachgewiesen werden konnte. Damit werden meines Erachtens auch die sehr weitgehenden Schlußfolgerungen hinfällig, die C. und K. hinsichtlich der allgemeinen Bedeutung der von ihnen „Autotoxine“ getauften bakteriellen Hemmungsstoffe ziehen zu können glauben. Namentlich gilt das aber von dem, was sie in ihrer zweiten Abhandlung „Ueber die Bedeutung der bakteriellen Hemmungsstoffe für die Physiologie und Pathologie des Darms“ ausgeführt haben. Wie schon der Titel vermuten läßt, wird jene Bedeutung von den Autoren sehr hoch angeschlagen. Es geht das auch aus ihrem Schlußsatz hervor: „So rechnen wir die Autotoxine der Darmbakterien zu jenen Stoffen, durch die das gesunde und das kranke Leben geschieht.“

Daß sie aber jene Bedeutung überschätzen, erhellt schon daraus, daß sie das von vielen Untersuchern vorhin bereits konstatierte massenhafte Absterben der Bakterien im Darmtraktus ohne weitere Begründung auf Rechnung der Autotoxine stellen, trotzdem daß sie in ihrer ersten Abhandlung selbst angeben, daß, so kräftig auch die antiseptische Eigenschaft dieser Hemmungsstoffe war, eine desinfizierende, keimtötende Wirkung sich nicht nachweisen ließ.

Wie ich gerne eingestehe, bin ich durch das tiefere Studium des Gegenstandes, zu welchem mich die Kritik der Arbeiten von C. und K. veranlaßte, zur Einsicht gekommen, daß auch meine Schlußfolgerung bezüglich des Vorkommens von thermolabilen Hemmungsstoffen in den menschlichen Faeces eine voreilige, wenn auch nicht eine irrthümliche war. Denn da ich ebenso, wie später die Autoren, für diese Untersuchungen Faecesagargemische benutzte, so ist die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß die Hemmungsstoffe erst nachträglich darin gebildet worden seien. Das einzig richtige Verfahren ist, wie das schon oben bei der Besprechung der Bouillonkulturen auseinandergesetzt wurde, die

direkte Untersuchung des bakterienhaltigen Materials als solchen, in casu der Faeces. Diesbezüglich liegen schon einige Beobachtungen vor, die wir Alex. Klein<sup>1)</sup> verdanken. Derselbe fand, daß bei Aufbewahrung der frischen, vor Austrocknung geschützten Faeces im Brutofen bei 37° meistens die Anzahl kultivierbarer Keime nur wenig zu-, die mikroskopisch bestimmte Zahl infolge von Absterben und Auseinanderfallen der Bakterien sogar bedeutend abnahm. Er konkludiert daraus, daß den Faeces eine antibakterielle Wirkung zukommt. Nicht in allen Fällen war diese jedoch deutlich ausgesprochen, und durch Verdünnung der Faeces mit Wasser wurde sie ausnahmslos aufgehoben. Ob auch Erhitzung der Faeces den nämlichen Effekt hat, wurde von Klein nicht untersucht.

Meine eigenen diesbezüglichen Untersuchungen haben nun folgendes gelehrt. Bei Aufbewahrung der Faeces im Brutofen bei 37° war meistens nur eine geringe Zunahme der kultivierbaren Keime (Züchtung auf Agarplatte bei 37°) zu beobachten. Ich fand z. B. ihre Zahl pro mg Faeces im Anfang 28 600, nach 27 Stunden 80 100, eine relativ geringe Vermehrung also. Ganz anders war das Ergebnis, als die Faeces vor der Brütung während einer Stunde auf 80° erhitzt und dann durch tüchtiges Vermischen mit einer Platinöse frischer Faeces wieder geimpft worden waren. Hier war nach 27 Stunden die Zahl der kultivierbaren Keime bis auf 7,5 Millionen gestiegen, d. h. etwa 26mal soviel, als ursprünglich in den frischen Faeces vorhanden waren.

Des weiteren habe ich frische Faeces in Petri-Schalen eingetragen, die Oberfläche glatt abgestrichen und diese mit unterschiedenen Bakterien aus dem Laboratoriumsvorrat (*B. pyocyaneus*, *V. cholerae*, *B. coli*) geimpft. Während keine dieser Impfungen bei 37° sichtbare Kulturen lieferten, fiel dagegen der Kontrollversuch mit auf 80° erhitzten Faeces positiv aus.

Die früher von mir gemachte Schlußfolgerung, daß in den Faeces thermolabile Hemmungsstoffe vorhanden sein müssen, bleibt also zu Recht bestehen. Auch läßt sich mittelst der von mir angegebenen Methode der Agarpapierplatte nachweisen, daß dieselben diffusibel sind. Dagegen muß ich Conradi und Kurljuweit widersprechen, wo sie aus den Ergebnissen ihrer, wie schon bemerkt, nicht einwandsfreien Versuchsmethode schließen zu können glauben, daß in den menschlichen Darmentleerungen entwicklungshemmende Stoffe enthalten sind, die noch in einer Verdünnung von 1:4000 das Bakterienwachstum aufheben, bezw. einschränken. Schon Klein fand nach Verdünnung der Faeces eine kräftige Vermehrung der züchtbaren Keime. Ich kann dies nur bestätigen. Es wurden von mir frische Faeces mit dem 5-fachen Volum 0,5-proz. Kochsalzlösung verrieben und dann zentrifugiert. Nach dem Zentrifugieren wurde die obenstehende Flüssigkeit abgehoben und bei 37° aufbewahrt. Die zu verschiedenen Zeiten davon zur Bestimmung der Keimzahl angelegten Agarplatten ergaben folgendes.

Tabelle II.

Anzahl bei 37° kultivierbarer Keime pro mg in der Zentrifugierflüssigkeit der 1:5 verdünnten Faeces.

Unmittelbar untersucht	2 770
Nach 30 Stunden	291 700
„ 48 „	500 600

1) Arch. f. Hyg., Bd. XLV.

Es wird also durch eine relativ nicht sehr starke Verdünnung die antagonistische Wirkung der Faeces schon dermaßen abgeschwächt, daß wiederum eine kräftige Vermehrung der darin enthaltenen Keime stattfinden kann.

Um ferner zu ermitteln, bei welchem Verdünnungsgrad ein Oberflächenwachstum stattfindet, habe ich frische Faeces mit sterilisierten Faeces in steigenden Mengen vermischt. Das Resultat der Impfung war, wie zu erwarten, sehr verschieden je nach Art der verimpften Bakterien und der verwendeten Faecesproben. Ein Coli-Stamm aus dem Laboratoriumsvorrat z. B. zeigte bei 37° Oberflächenwachstum, bald bei einer Verdünnung der Faeces von 1:5, bald erst bei 1:40.

Dahingegen sieht man fast regelmäßig bei Aufbewahrung der unvermischten frischen Faeces bei 22°, weniger häufig bei 37°, spontan Kolonien darauf entstehen. Meistenteils handelt es sich dabei um Hyphomyceten und Blastomyceten, es sind aber vielfach auch Bakterienkulturen darunter, und namentlich solche, die zur Coli-Gruppe gehören. Was diese Mikroorganismen anbetrifft, kann also von einer antagonistischen Wirkung der Faeces darauf kaum die Rede sein.

Immerhin geht aus den erwähnten Tatsachen hervor, daß die Vorstellung, welche sich Conradi und Kurpjuweit über diese antagonistische Wirkung machen, eine übertriebene ist.

*Nachdruck verboten.*

## Die Wirksamkeit des Formalins und des Wasserstoffsuperoxyds in der Milch.

[Aus dem Hygienischen Institut der kgl. Universität Turin.  
Direktor: Prof. Dr. L. Pagliani.]

Von Dr. P. Bandini.

(Schluß).

Der natürlichste und geeignetste Weg zum vorgesteckten Ziele war gewiß der von Prof. Jemma (28) bei seinen Experimenten „Ueber künstliche Verdauung der Milch“ eingeschlagene. Er besteht darin, daß einer bestimmten Menge Milch eine bestimmte Quantität Fermente zugesetzt wird und dann nach einer vorher festgesetzten Zeit die mehr oder weniger eingetretene Verdauung durch Dosierung des N nach Kjeldahl ausfindig gemacht wird.

Bevor ich mich jedoch an dieses lange und schwierige Verfahren heranmachte, dachte ich mir, ob es nicht doch vielleicht zur Lösung der Frage von meinem Standpunkte aus besser wäre, zu indirekten Proben, sozusagen Versuchsproben, seine Zuflucht zu nehmen, eben um zu sehen, ob die der mit Formalin und Wasserstoffsuperoxyd vermengten Milch zugesetzten künstlichen Fermente noch im stande sind, ihre proteolytische Wirkung so weit zu treiben, daß sie ungefähr mit derselben Energie und in demselben Zeitraum wie in einer normalen Milch die Bildung des wahren Peptons zu bewirken vermögen. Dies schien für meinen Fall hinzureichen. Zu einer solchen Untersuchung brauchte ich also nur festzustellen, ob in der Verdauungsflüssigkeit der verschiedenen Milchproben unter denselben Verhältnissen die Bildung des wahren Peptons erhalten worden war.

Ich verfuhr hierzu folgendermaßen:

Nach Präparierung der Pepsin- und Pankreatinlösungen — wie nachstehend —

- |                                      |       |
|--------------------------------------|-------|
| a) Chlorwasserstoffsäure             | 2 g   |
| Pepsin                               | 2 „   |
| Sterilisiertes, destilliertes Wasser | 100 „ |
| b) Pankreatin                        | 2 „   |
| Sterilisiertes, destilliertes Wasser | 100 „ |

verteilte ich auf mehrere Erlenmeyer 50 ccm Milch, sofort nachdem diese unter den gewohnten aseptischen Vorsichtsmaßregeln aufgenommen worden war. Dann setzte ich einigen Erlenmeyer 2 ccm der saueren Pepsinlösung bei, anderen dagegen 2 ccm der Pankreatinlösung. goß in diese Milchproben darauf verschiedene Dosen Formalin und Wasserstoffsuperoxyd und brachte sie schließlich zusammen mit den entsprechenden Kontrollröhrchen in den Brutschrank auf 38—39°.

Nach Verlauf der festgesetzten Zeit nahm ich sie aus dem Brutofen heraus und untersuchte, bis zu welchem Punkte die proteolytische Wirkung des Fermentes vorgeschritten war. Zu diesem Zwecke filtrierte ich die Verdauungsflüssigkeit, deren einen Teil ich warm mit reinstem  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  sättigte, womit ich also, mit Ausnahme des reinen Peptons, jede Spur proteischen Materials fällte. Das reine Pepton suchte ich dann mit der gewohnten Biuretreaktion zu ermitteln.

In nachstehender Tabelle sind die von mir erhaltenen Daten summarisch wiedergegeben:

Tabelle XI. Kuhmilch.

	Stunden des Verweilens des Desinfek- tionsmittels in der Milch	Stunden des Verweilens im Brutofen bei 38°	Verdauung der Flüssigkeit	Gegenwart des Peptons	
				Pancreatin	Pepsin
50 ccm Milch + Formalin:					
1—5000	12	15	teilweise	—	—
1—5000	40	15	„	—	—
1—500	12	15	nicht eingetreten	—	—
1—500	24	15	„ „	—	—
50 ccm Milch + Wasserstoffsuperoxyd:					
1—250	12	15	vollständig	++	++
1—250	24	15	„	++	++
1—50	36	15	vollständig	++	++
1—50	48	15	„	++	++
Nachprüfung		15	„	++	++
„		15	„	++	++
„		15	„	++	++

Aus dieser Tabelle geht nun der interessante Umstand klar hervor, daß der Zusatz des Formalins zur Milch auch in schwacher Proportion (1:5000), wie dies in der Praxis angeraten wird, die Eigenschaft der Milchbestandteile derart verändert, daß dadurch die proteolytische Wirkung der Fermente Pepsin und Pankreatin, die doch reagieren sollten, stark gehemmt wird.

Ferner darf nicht daran gedacht werden, daß das Formalin eine

Schwächung der verdauenden Wirkung des Pepsins und Pankreatins habe hervorrufen können, denn viele Forscher sind auf Grund eigener Versuche einstimmig zu der Ueberzeugung gelangt, daß höchstens starke Dosen Formalin das Pepsin und Trypsin in schädlichem Sinne beeinflussen können.

Der Zusatz des Wasserstoffsuperoxyds läßt hinsichtlich der Verdauung mit künstlichen Fermenten keine Veränderung in der Milch hervortreten, was in ganz bestimmter Weise aus der Färbungsintensität der der Biuretreaktion ausgesetzten Flüssigkeit hervorgeht im Vergleich zu derjenigen, die mit natürlicher Milch erhalten worden ist.

\* \* \*

Im Verlauf einiger meiner Versuche hatte ich Gelegenheit, zu beobachten, daß das Kasein der mit Desinfektionsmitteln vermengten Milch zuweilen hinsichtlich gewisser ihm eigentümlichen Merkmale besondere Veränderungen aufweist, im Vergleich zu dem Kasein einer normalen Milch. Es schien mir also angebracht, auf diesen Umstand näher einzugehen und entsprechende genaue direkte Untersuchungen anzustellen.

Aus der in dieser Richtung geführten Prüfung ergab sich mir dann, daß, was das Kaseingerinnsel anbelangt, das, sei es nun in der normalen Milch oder in der mit Formalin und Wasserstoffsuperoxyd vermengten, mit dem Labferment erhalten worden ist, keine wirklich bedeutsamen Differenzen wahrgenommen werden; nur ist es mir aufgefallen, daß, während das Serum natürlicher Milch eine gewisse Zeit nach stattgehabter Bildung des Gerinnsels an die Oberfläche hinansteigt und auf dem Gerinnsel selbst schwimmt, diese Besonderheit sich nicht mehr bei einer Milch wahrnehmen läßt, die zuvor mit einer Formalindosis behandelt worden ist, die nicht unter 1 ‰ steht.

Bewirkt man jedoch die Fällung der Milch mittels Zusatz von Ammoniumsulfat, so wird man da leicht wahrnehmen, daß das Formalin die morphologischen Eigenschaften des Kaseingerinnsels verändert. Während man nämlich in der normalen Milch bei Behandlung mit Ammoniumsulfat einen feinen, weißflockigen Niederschlag erhält, dessen Flöckchen starke Neigung besitzen sich zu vereinigen und sich in eine schwammig und elastisch aussehende Masse zu verwandeln, stürzt in der mit 1—2 ‰ Formalin behandelten Milch das Kasein in großen, dicken, deutlich voneinander getrennten Flocken nieder, die in eine vollauf gleichartige Masse reduziert werden können.

Nach Aufnahme des durch das Ammoniumsulfat in den Milchproben mit verschiedenen Dosen Formalin und Wasserstoffsuperoxyd erzeugten Gerinnsels untersuchte ich das Verhalten dieser Kaseingerinnsel gegenüber den gewöhnlichsten Lösemitteln des Kaseins selbst.

Daraus ergab sich mir nun, daß das Gerinnsel einer mit Formalin vermischten Milch entgegen dem, wie in meinem Falle, der natürlichen Milch nicht mehr in Wasser löslich ist (nur das äußerst reine Kasein ist in Wasser unlöslich und ebenso in einer Lösung von NaCl und  $MgSO_4$ ); weiterhin ward mir die Erfahrung, daß das Kaseingerinnsel einer formalinisierten Milch in den Alkalien und alkalischen Erden fast unlöslich ist, ganz unlöslich aber in  $H_2SO_4$ , worin das Gerinnsel bedeutend anschwillt, ohne sich aufzulösen oder zu zerfallen.

Damit sind in kurzem die Veränderungen gegeben, die im Kaseingerinnsel erhalten wurden nach Fällung mit Ammoniumsulfat, Veränderungen, die sich jedoch nur auf die mit 1—2 ‰ Formalin vermengte

Milch beziehen, niemals aber auch auf die selbst mit 4 Proz. Wasserstoffsuperoxyd vermengte.

Der Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd in die Milch ließ noch eine andere interessante Tatsache hervortreten. Es ließ sich nämlich in einer mit Formalin vermischten Milch das Aufsuchen des Fettes nach der Marchandschen Methode nicht mehr ermöglichen, da sofort nach Beigabe von Aether sich ein weißer Niederschlag bildet, der feinflockig, fast pulverartig ist und Neigung aufweist, auf den Boden des Röhrchens zu stürzen und die Absonderung des Fettes verhindert.

Dieser außerordentlich feine Niederschlag vermischt sich nach heftigem Schütteln mit dem übrigen wieder zu einer Emulsion, doch kaum ist die Masse wieder in den Ruhezustand eingetreten, so bildet sich auch rasch wieder der Niederschlag. Sammelt man dagegen den Inhalt des Marchandschen Röhrchens in einer Kapsel an und läßt dann den Aether im Wasserbade verdunsten, so erhält man den Niederschlag unter Form einer dicken, gummiartigen Masse.

In derselben Weise haben Weigle und Merkel festgestellt, daß mit einer mit Formalin vermengten Milch die Bestimmung des Fettes mit dem Gerberschen Verfahren nicht mehr angebracht ist, was sich auch leicht verstehen läßt, wenn man bedenkt, was ich anzutreffen Gelegenheit hatte, daß das formalinisierte Kasein in Schwefelsäure nicht mehr löslich ist.

Die besondere von mir beschriebene Tatsache ist jedoch, was das Fett anbelangt, nur nach Zusatz von relativ hohen Dosen Formalin zur Milch zu erhalten; nach Zusatz von kleinen Dosen und Zugabe von Wasserstoffsuperoxyd habe ich niemals eine bemerkenswerte Modifikation wahrgenommen.

Ich gebe nun zuletzt noch die Experimente wieder, die in dem Bestreben angestellt wurden, das Sterilisationsvermögen der beiden in Rede stehenden und der Milch beigefügten Desinfektionsmittel zu beurteilen. Formalin, in einem Verhältnis von 1:500, 1‰, erzeugt nach meinen experimentellen Erfahrungen eine wirkliche Sterilisation der Milch, dagegen im Verhältnis 1:5000, 1:10 000 befördert es das Konservationsvermögen der Milch bedeutend und zwar auf eine zwischen 6 und 12 Tagen stehende Zeit. Es hängt diese Schwankung ganz und gar von der Art und Weise ab, auf welche die Probe abgenommen wurde, von der Temperatur, welcher die Milch ausgesetzt war und dem Umstande, ob das Desinfektionsmittel sofort nach Melkung der Milch beigefügt worden war oder etwas später.

Wenn nun auch alle darin übereinstimmen, daß dem Formalin in Proportion von 1:5000, 1:10 000 ein Erhaltungsvermögen der Milch gegenüber zugestanden werden kann, so darf man deswegen doch nicht ohne weiteres glauben, daß in einer so formalinisierten Milch auch die pathogenen Keime getötet werden, wie dies auch Flügge hervorhebt, und die Beobachtungen O. Strenzheims glauben lassen (30), der auf Grund seiner Versuche zu dem Schlusse gekommen ist, daß, wenn auch der Zusatz von Formalin in einer Dosis von 1‰ oder 1:5000 die Erhaltung der Milch befördert, ohne die darin enthaltenen Antikörper zu töten, es doch nicht gegen den Tuberkelbacillus anzukommen vermag.

Ferner verdient noch beachtet zu werden, daß, was die Einnahme einer mit kleinen Dosen Formalin vermengten Milch anbelangt, nicht alle der Ansicht Behrings sind, der die Sache für absolut unschädlich hält. Im Gegenteil, nach den Versuchen Schlossmanns, Weigle und



Merkels, Gautiers, Annets (laut Bericht der Semaine méd. 1904. No. 8) wurde durch das der Milch oder den Lebensmitteln beigefügte Formaldehyd unleugbar eine schädliche Wirkung hervorrufen, die bis heute noch nicht genau bestimmt werden konnte, da die bis heute am Menschen vorgenommenen Versuche weder hinreichend an Zahl sind noch hinreichend lang fortgesetzt wurden.

Was nun die erhaltende Kraft des Wasserstoffsuperoxyds in der Milch anbelangt, so sind die Ergebnisse der verschiedenen Forscher noch nicht einstimmig. Das rührt wohl hauptsächlich von dem Umstande her, daß das in den Handel gebrachte Wasserstoffsuperoxyd sehr verschiedener Art ist, also auch unrein sein und Fluorwasserstoffsäure, lösliche Bariumsalze enthalten und leicht seinen Konzentrationstitre verlieren kann.

Ich selbst habe mich des reinen Merckschen Wasserstoffsuperoxyds bedient und bin, nach meinen Versuchen zu urteilen, dahin gelangt, die Milch bei Dosen von 2—3 Proz. 3—5 Tage lang zu erhalten. Die von mir in dieser Richtung erhaltenen Resultate stimmen fast mit denen Renards (31), Rosams (32) und Jahlin-Gonnets (33) überein.

Mit den von mir verwandten Dosen erhielt ich jedoch niemals eine wirkliche Sterilisation der Milch, womit ich mich im Widerspruch befinde mit den Ergebnissen Caos (34), der mit Zusatz von 1 Proz. Wasserstoffsuperoxyds zur Milch eine volle Sterilisation derselben erhalten haben will.

Es scheint demnach auch das Wasserstoffsuperoxyd keine wirkliche bakterizide Einwirkung auf die pathogenen Keime zu besitzen. So hat auch neuerdings Duclaux (35) nachgewiesen, daß der Typhusbacillus, die Cholera vibrio, der *B. coli*, der *Pyocyanus*, der *Prodigiosus* in einer mit 2 Proz. Wasserstoffsuperoxyd vermengten Milch zu wachsen vermögen.

Einstimmig ist man heute der Ansicht, daß durch eine mit kleinen Dosen Wasserstoffsuperoxyd vermengte Milch keine schädliche Wirkung erzeugt werden könne, besonders infolge der dem Wasserstoffsuperoxyd innewohnenden Eigenschaft, sich in Berührung mit den Milchmaterialien in Wasser und naszierenden Sauerstoff zu zersetzen, von dessen Wirkung eben sein antiseptisches Vermögen abhängt.

Es gelang mir festzustellen, daß nach Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd in Proportionen von 1—2 Proz. nach wenigen Stunden in der Milch auch nicht mehr die geringsten Spuren davon vorgefunden werden können. Bei Zusatz von 3 Proz. geht das Verschwinden des Wasserstoffsuperoxyds immer langsamer vor sich, von 4—5 Proz. an können kleine Quantitäten desselben auch noch nach vielen Tagen angetroffen werden.

Zur Ermittlung des Wasserstoffsuperoxyds in der Milch befreite ich diese von den proteischen Substanzen, setzte dem Filtrat ein gleiches Volumen Aether zu und einen Tropfen Chromsäure. Ist dann das Wasserstoffsuperoxyd vorhanden, so färbt sich der Aether violett.

Es ist also alles in allem der Zusatz des Wasserstoffsuperoxyds zur Milch ein wirklich praktisches Konservationsmittel, da es eben das einzige chemische Desinfektionsmittel ist, das die physischen, chemischen und biologischen Eigenschaften der Milch nicht verändert.

Nach alledem, was ich vorstehend auseinandergesetzt habe, ist es wohl überflüssig, weiter darauf einzugehen, in welcher Hinsicht das Wasserstoffsuperoxyd den Vorrang genießt vor dem Formalin, das für eine zur Konservierung von Lebensmitteln nicht geeignete Substanz gehalten werden muß.

### Schlußfolgerung.

1) Das Formalin verändert die Milch derart, daß sie nicht mehr mit dem Labferment reagiert. Diese Veränderung ist desto fühlbarer, je länger das Desinfektionsmittel mit der Milch in Berührung bleibt und je größer die angewandte Dosis ist. Dagegen verhält sich die mit Wasserstoffsuperoxyd vermengte Milch dem Labferment gegenüber wie normale Milch.

2) Das Formalin und das Wasserstoffsuperoxyd lassen keine bemerkenswerte Einwirkung auf die in der Milch vorhandenen löslichen Fermente erkennen.

3) Entgegen dem Wasserstoffsuperoxyd hemmt das auch in kleinen Dosen der Milch beigesetzte Formalin die proteolytische Wirksamkeit der künstlichen Fermente, Pepsin, Pankreatin schwer und bewirkt, wenn es in entsprechend starken Dosen gebraucht wird, bedeutende Veränderungen in den physischen und chemischen Eigenschaften des Kasein-gerinnsels.

4) Das der Milch im Verhältnis von 1:5000, 1:10000 beigesetzte Formalin konserviert die Milch 6—12 Tage lang, doch ist es höchst wahrscheinlich, daß der fortgesetzte Genuß so formalinisierten Milch dem Organismus Schaden bringen kann.

5) Das Wasserstoffsuperoxyd konserviert in Proportionen von 1 bis 3 Proz. die Milch 3—6 Tage lang; die so konservierte Milch ist dem Organismus in keiner Weise schädlich.

### Literatur.

- 1) Behring, Deutsche med. Wochenschr. 1903. 24. Sept. und 1904. No. 6. Die Therapie der Gegenwart. 1904. Jan.
- 2) Bertarelli, Intorno alle immunizzazioni attive e passive per le vie digerenti dei neonati e dei lattanti. (Rivista d'Igiene e de Sanità pubbl. 1905.)
- 3) Bach und Benedicenti, Ueber Verbindungen der Eiweißkörper mit Aldehyden. (Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XXXI. p. 461—478.)
- 4) Loewenstein, Die Wirkung des Formalins auf die Milch und das Labferment. (Zeitschr. f. Hyg. 1904.)
- 5) Béchamp, A., Sur la zymase du lait de femme. (Comptes rend. de l'anat. des sciences. T. XCVI. p. 1508—1509.)
- 6) Bouchut, Hygiène de la première enfance. 8<sup>e</sup> éd.
- 7) Moro, Untersuchungen über diastat. Enzym in den Stühlen von Säuglingen und der Muttermilch. (Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. XLVII. 1898. p. 342.) — Zur Charakteristik des diastatischen Enzyms in der Frauenmilch. (Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. LII. 1900. p. 524—529.)
- 8) Marfan, Allaitement naturel et allaitement artificiel; Hypothèses sur le rôle des zymases du lait. (Presse médicale. 1901. p. 13—16.)
- 9) Nobécourt et Merklen, Présence d'un ferment dedoublant le salol dans les organes de l'homme et de divers animaux, aussi que dans le lait de femme e de chienne. (Compt. rend. de la société de biologie. 1901.)
- 10) Luzzati und Biolchini, Atti del IV. Congresso italiano de pediatria. Firenze 1901. 12.—15. oct.
- 11) Spolverini, Sui fermenti solubili del latte e sui mezzi addatti a determinare la comparsa di fermenti, normalmente assenti nel latte di alcuni animali. (Annali d'Igiene speriment. Vol. XII. 1902. Fasc. 3.)
- 12) Moro und Hamburger, Ueber eine neue Reaktion der Menschenmilch. (Wien. klin. Wochenschr. 1902. No. 5.)
- 13) Bernheim-Karrer, Untersuchungen über das Fibrinferment der Milch. (Centralblatt f. Bakt. Abt. I. Orig. 1902.)
- 14) Escherich, Les doctrines de l'allaitement artificiel, lait de femme agissant comme ferment (XIII. Congrès international de médecine, Paris 1900. Wien. klin. Wochenschr. 1900. No. 51.)
- 15) Marfan, loc. cit.
- 16) Concetti, Sull' atrofia primitiva infant. e sui vari generi di allattamento dal punto di vista della nuova teoria des fermenti salubili (Policlinica. 1901.)

- 17) Nobécourt et Sérin, Presse méd. 1902. p. 69.
- 18) Arnold, Archiv der Pharmacie. 1881. No. 4.
- 19) Gillet, La ossidasi del latte. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. 1903.)
- 20) Rullmann, Ueber Reaktion des oxyd. Enzyms der Kuh- und Frauenmilch. (Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. 1904. 15. Jan.)
- 21) Schardinger, Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. 1902. Novbr.
- 22) Weber, La proca di Arnold col Guajacolo per il riconoscimento del latte crudo. (Milchzeitung. Bd. XXXI.)
- 23) Gillet, Charles, Journal de Physiol. et Pathol. gén. T. V. 1903. p. 503—518.
- 24) Desmoulières, Ueber das Salol spaltende Ferment in gewissen Milchsorten. (Journ. Pharm., Chim. 1903.)
- 25) Moro, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. 1903. No. 33. Ref. 10.
- 26) Weigle und Merkel, Die Einwirkung des Formalins auf Milch. (Forschungsber. über Lebensm. u. ihre Bezieh. z. Hyg. 1895.)
- 27) Schwarz, L., Ueber Verbindung der Eiweißkörper mit Aldehyden. (Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XXXI. 1901.)
- 28) Jemma, Sulla digestione artificiale del latte. (Clin. med. 1899. p. 341.)
- 29) Flügge, Deutsch. med. Wochenschr. 1904. No. 8.
- 30) Stenström, Le lait additionné de formol selen le procédé von Behring. (Revue gén. du lait. 1904. 15. Nov. p. 49—55.)
- 31) Renard, Revue d'hygiène. 1904. No. 2.
- 32) Rosam, A., Ueber Konservierung der Milch mittels Wasserstoffsuperoxyd. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1901.)
- 33) Jahlin-Gonnets, Das Wasserstoffsuperoxyd zur Konservierung der Nahrungsmittel, besonders der Milch. (Ann. chim. analyt. 1901. p. 129—133.)
- 34) Cao, G., Ricerche sperimentali s. sterilizz. chim. del latte. (Riv. d'Igiene e di San. pubbl. 1904.)
- 35) Duclaux et Nicolle, Recherches expérimentales sur la conservation du lait (Revue d'Igiène. 1904. p. 101.)

Nachdruck verboten.

## Ueber Choleravibrionen und andere Vibrionen.

### III. Ueber Identität der Hämotoxine und der Toxine, der Vibrionen sowie deren Antitoxine.

[Aus dem staatl. serotherapeutischen Institute in Wien.

Vorstand: Prof. R. Paltauf.]

Von Privatdozent Dr. B. Kraus und Dr. A. Prantschoff.

(Schluß.)

Durch Vorbehandlung von Ziegen mit Hämotoxinen dieser Stämme gewinnt man, wie aus folgender Tabelle hervorgeht, Antihämotoxine, welche das zugehörige Hämotoxin und Hämotoxine der anderen El Torvibrionen in ganz gleicher Weise neutralisieren.

Tabelle I.

Neutralisation der Hämotoxine dieser Vibrionen mit den Antihämotoxinen dieser Vibrionen.

Hämotoxin des Vibrio El Tor	Antihämotoxin (i. a. Ziegenserum) erzeugt mit Stamm I			Antihämotoxin erzeugt mit Stamm III			Antihämotoxin erzeugt mit Stamm V		
	0,1	0,05	0,01	0,1	0,05	0,01	0,1	0,05	0,01
Vibrio I 0,01	Keine Hä-	Spur Hä-	Hämo-	Spur Hämolyse			Keine Hämo-	Kuppe	
Vibrio III 0,01	Spur Hämolyse			Keine Hämo-	Hämolyse		Keine Hämo-	Spur Hä-	
Vibrio V 0,05	Spur Hämolyse			Keine Hämo-	Hämolyse		Keine Hämo-	Kuppe	

Wie aus Kontrollversuchen die nicht näher angeführt sind, hervorgeht, vermochten i. a. Sera (von 3 Ziegen) selbst in Mengen von 1,5 ccm die lösende Dosis dieser Vibrionen nicht zu neutralisieren.

Wenn auch die geprüften Antihämotoxine keinen besonders hohen Wert aufweisen, lassen sie doch erkennen, daß zum Unterschied von normalem Ziegenserum ihnen neutralisierende Eigenschaften dem Hämotoxin dieser Vibrionen gegenüber zukommen. Namentlich sind es die Sera III—V, welche in Mengen von 0,05 die Hämotoxine dieser Vibrionen paralisieren, die deutlich die Wirkung des Antivibriohämotoxins erkennen lassen. Trotzdem diese Vibrionen agglutinatorisch sich verschieden verhalten, indem das homologe Serum zunächst bloß den homologen Stamm agglutiniert, die anderen gewöhnlich unbeeinflusst läßt, vermag das mit einem Stamme gewonnene Antihämotoxin die Hämotoxine anderer El Torvibrionen zu neutralisieren. War schon diese Feststellung interessant, so dürften doch die weiteren Versuche mehr Interesse beanspruchen. In der schon erwähnten ersten Mitteilung über die 6 El Torvibrionen ist nachgewiesen worden, daß die Hämotoxine der 6 El Torstämme Antihämotoxine erzeugen, welche diese und auch Hämotoxine die den biologisch verschiedenen Vibrio Nasik neutralisieren. Die in dieser Richtung ausgedehnten Versuche ergaben das überraschende Resultat, daß auch hier gleiche Verhältnisse vorliegen. Die Antihämotoxine dieser Vibrionen neutralisieren auch Hämotoxine anderer Vibrionen (V. Elvers-Massaua-Metschnikoff und El Tor V) sowie die eigenen Hämotoxine. Außerdem ließ sich aber nachweisen, daß die Antihämotoxine, gewonnen mit Hämotoxinen der 6 El Torstämme, die mit Choleravibrionen biologisch identische Reaktionen geben, ebenso die Hämotoxine dieser Vibrionen neutralisieren wie die der 6 Stämme. Und auch das Antihämotoxin des Vibrio Nasik verhält sich den Hämotoxinen dieser Stämme gegenüber, sowie dem eigenen und dem der 6 El Torstämme. Diese Tatsache, die auch aus den weiteren Versuchen über Hämotoxine der anderen Vibrionen ganz klar hervorgeht, eröffnet ganz neue Gesichtspunkte. Vibrionen die wir nach dem jetzigen Stand der Lehre als vollkommen verschieden auffassen müssen, da sie ja sich biologisch verschieden verhalten, produzieren ein Hämotoxin, welches sich durch den Antihämotoxinversuch als identisch erweist (s. Tabelle II).

In früheren Arbeiten konnten wir nachweisen, daß eine Reihe der bekannten Vibrionen zum Unterschiede vom Choleravibrio Hämotoxine in Bouillonkulturen bilden. Es war nun wichtig zu erfahren, ob auch die Hämotoxine dieser Vibrionen gegenüber dem heterologen Antihämotoxin ein gleiches Verhalten zeigen wie die El Torstämme. Wie aus Tabelle III hervorgeht, wurden zu diesen Versuchen Hämotoxine folgender Vibrionen verwendet: V. Elvers, Massaua, Metschnikoff, Deneke, Danubicus, Finkler-Prior, V. 248, 463, 361, 250. Es gelingt mit dem Antihämotoxin, gewonnen mit Hämotoxin des Vibrio IV und V der 6 El Torstämme, mit dem Hämotoxin des Vibrio Nasik, die Hämotoxine dieser Vibrionen ebenso zu neutralisieren wie die zugehörigen Hämotoxine. Auch die Antihämotoxine, welche mit einzelnen der Hämotoxine dieser angeführten Vibrionen

erzeugt sind, haben die Fähigkeit, nicht nur das zugehörige Hämotoxin, sondern auch Hämotoxine anderer Vibrionen zu neutralisieren.

Tabelle  
Neutralisation der Hämotoxine der El Tor-

Antihämotoxine		V. Elvers 0,1	V. Massaua 0,05	V. Metschn. 0,5	V. El Tor spez. V 0,01	V. El Tor n. spez. I 0,05	V. El Tor n. spez. II 0,05	V. El Tor n. spez. IV 0,05	V. El Tor n. spez. V 0,05
V. El Tor nicht spez. III	0,1 0,05 0,01	θ θ +	θ θ +	θ θ +	θ θ +	. . . . .	. . . . .	. . . . .	. . . . .
V. El Tor nicht spez. V	0,1 0,05 0,01	θ θ +	θ θ θ	θ θ θ	θ θ +	. . . . .	. . . . .	. . . . .	. . . . .
V. El Tor spez. IV	0,05 0,01 0,001	. . . . .	. . . . .	. . . . .	. . . . .	θ θ θ	θ θ +	θ θ +	θ θ θ
V. El Tor spez. V	0,05 0,01 0,005	. . . . .	. . . . .	. . . . .	. . . . .	θ θ +	θ θ θ	θ θ θ	θ θ θ
V. Nasik	0,05 0,01 0,005 0,001	. . . . . . .	. . . . . . .	. . . . . . .	. . . . . . .	θ θ θ θ?	θ θ θ θ	θ θ θ θ	θ θ θ θ

Tabelle  
Neutralisation der Hämotoxine verschiedener Vibrionen

Antihämotoxine		V. Massaua 0,05	V. Metschnikoff 0,5	V. Elvers 0,01	V. El Tor spez. V 0,01	V. El Tor n. spez. I 0,01
V. Elvers	0,1 0,05 0,01	θ θ θ	θ θ θ?	θ θ θ?	θ θ θ?	θ θ θ?
V. Metschnikoff	0,1 0,05 0,01	θ θ? θ?	θ θ? θ?	θ θ? θ?	θ θ? θ?	θ θ? θ?
V. Nasik	0,01 0,005 0,001	θ θ θ	θ θ θ	θ θ θ	θ θ θ	. . . . .
V. El Tor spez. IV	0,1 0,05 0,01	θ θ θ	θ θ θ	θ θ θ	θ θ θ	. . . . .
V. El Tor spez. V	0,1 0,05 0,01	θ θ θ	θ θ θ	θ θ θ	θ θ θ	. . . . .

1) Die Sera, gewonnen mit Stamm Elvers-Metschnikoff, stammen von Tieren. Nasik erzeugt sind. Daß aber diese Werte spezifische Werte sind, beweisen die Kon- keine antihämotoxische Wirkung aufweisen.

Die weiteren Versuche werden lehren, daß außerdem viele dieser verschiedenen Vibrionen noch akut wirkende Toxine produzieren, die sich ebenso wie die Hämotoxine mittels Antitoxin als identisch charakterisieren lassen.

II.  
vibrien mit heterologen Antihämotoxinen.

V. El Tor n. spez. VI 0,05	V. El Tor n. spez. VIII 0,05	V. El Tor n. spez. X 0,1	V. El Tor n. spez. XIII 0,1	V. El Tor n. spez. XVI 0,05	V. El Tor n. spez. XX 0,05	V. El Tor n. spez. XXII 0,05	V. El Tor n. spez. XXIII 0,1	V. El Tor n. spez. XXV 0,1	V. El Tor n. spez. XXVI 0,1	V. El Tor n. spez. XXVII 0,1
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ
θ	θ?	θ	+	θ	θ?	θ	θ	θ	θ	θ
θ	+	θ?	+	θ	θ?	θ	θ?	θ	θ	θ
θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ
θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ?	θ	θ	θ	θ
θ	θ	θ	θ	θ	+	+	θ	θ	θ	θ
θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ
θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ
θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ
θ	θ?	θ	+	θ	θ	θ?	θ	θ	θ	θ

III.  
mit homologen und heterologen Antihämotoxinen<sup>1)</sup>.

V. El Tor n. spez. III 0,01	V. El Tor n. spez. V 0,05	V. Finkler- Prior 0,5	V. Danu- bicus 0,1	V. Deneke 0,1	V. 248 0,1	V. 463 0,05	V. 361 0,1
θ	θ	θ	.	.	.	.	.
θ	θ	θ	.	.	.	.	.
θ?	θ?	θ	.	.	.	.	.
θ	θ?	θ	.	.	.	.	.
θ?	θ?	θ	.	.	.	.	.
θ?	θ?	θ	.	.	.	.	.
.	.	θ	θ	θ	θ	θ	θ
.	.	θ	θ	θ	θ	θ	θ
.	.	θ?	θ?	θ?	θ	θ	θ
.	.	θ	θ	θ	θ	θ	θ
.	.	θ?	θ	θ?	θ	θ	θ
.	.	θ?	θ?	θ?	θ	θ	θ
.	.	θ	θ	θ	θ	θ	θ
.	.	θ	θ	θ	θ	θ	θ
.	.	θ	θ	θ	θ	θ	θ

welche nicht solange in Behandlung waren wie die, welche mit El Tor IV, V und Vibrio trollversuche, mit normalem Ziegenserum angestellt, welches selbst in Mengen von 0,5 ccm

Tabelle  
Agglutination verschiedener Vibrionen

Vibrionen	Ser. V. El Tor n. spez. III		Ser. V. El Tor n. spez. V		Ser. V. El Tor n. spez. 12	Ser. V. El Tor n. spez. 21	
	1:200	1:200	1:100	1:400	1:20	1:20	1:200
V. n. spez. El Tor I	θ	.	θ	θ	θ	θ	θ
" " " " III	+	+	θ	θ	θ	θ	θ
" " " " V	+	+	+	+	θ	?	θ
El Tor "V. n. spez. 22—32	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ
V. El Tor n. spez. 12	.	.	.	.	+	+	+
" " " " 21	.	.	.	.	.	θ	θ
" " " " spez. 1—6	.	.	.	.	.	θ	θ
" Deneke	.	.	.	.	.	θ	θ
" Elvers	.	.	.	.	.	θ	θ
" Massaua	.	.	.	.	.	θ	θ
" 35 (Gottschlich)	.	.	.	.	.	.	.
" 361	.	.	.	.	.	.	.
" El Tor n. spez. IX	.	.	.	.	.	.	.

Da die 32 anderen Vibrionen bei analogen Darmprozessen gefunden wurden wie die 6 El Torstämme, bei welchen Giftproduktion nachgewiesen wurde, so schien es wahrscheinlich, daß sie auch solche Eigenschaften besitzen. Daß diese Vibrionen bloß Hämotoxine produzieren, würde nichts besonderes bedeuten, da ja nach unseren Untersuchungen und solchen von Meinicke, Pribram die meisten Vibrionen Hämotoxin zu produzieren vermögen. Durch den Nachweis eines identischen, wohl charakterisierten akuten Toxins wäre die Zugehörigkeit dieser Vibrionen zu den 6 El Torvibrionen in pathogenetischer Beziehung wahrscheinlich gemacht und auch die Möglichkeit eines ätiologischen Zusammenhanges dieser Vibrionen zum Krankheitsbild<sup>1)</sup> (Colitis, Dysenterie).

Der Nachweis der Giftbildung dieser Vibrionen wurde in derselben Weise geführt wie bei den anderen Vibrionen<sup>2)</sup>. Es wurden verschieden-alterige Bouillonkulturen dieser Vibrionen intravenös Kaninchen injiziert, wobei sich herausstellte, daß viele dieser Vibrionen akut wirkende Toxine zu bilden im stande sind.

Nicht alle 32 Vibrionen konnten auf ihre Giftbildung untersucht werden, da ja diese Versuche zu kostspielig wären. Einzelne Stämme bloß wurden in der Richtung untersucht. Es wurden 3-tägige Bouillonkulturen dieser Stämme auf ihre Giftigkeit geprüft, wobei schon einige Stämme Gifte nachweisen ließen. Daß auch die anderen Stämme bei Prüfung älterer Bouillonkulturen sich giftig erweisen dürften, ist möglich. Hauptsächlich kam es darauf an, zu zeigen, daß es gelinge, bei diesen Vibrionen ein ähnlich wirkendes Gift nachzuweisen wie bei den 6 El Torvibrionen und dem V. Nasik. Die Vibrionen I, III, VIII, X zeigten sich als typische Giftbildner. Nach intravenöser Injektion von 0,5 bis

1) Später, bis die Beziehung dieser Vibrionen zum Krankheitsbilde (Colitis, Dysenterie) klargestellt sein wird, lassen sich diese Vibrionen auch durch ihre pathogene Eigenschaft von den harmlosen Vibrionen abtrennen.

2) Zur Technik des Giftnachweises wäre zu bemerken, daß bereits 2—3-tägige Bouillonkulturen Gift enthalten. Allerdings kommt es vor, daß manchmal Gift erst in 4—6-tägigen Kulturen sich nachweisen läßt. Für den Giftnachweis genügt es, die unfiltrierte Bouillonkultur zu benutzen. Um das Gift bakterienfrei zu gewinnen, benutzen wir Reichel-Filter. Auch diese Gifte sowie alle anderen Toxine werden durch die Filter abgeschwächt.

## IV.

mit homologem und heterologem Serum.

Ser. V. 35 (Gott-schlich)		Ser. V. 361		Ser. V. Deneke		Ser. V. Elvers		
1:20	1:500	1:20	1:500	1:20	1:200	1:20	1:400	1:400
0	0	0	0	0	0	0	0	.
0	0	0	0	0	0	+	+	.
0	0	0	0	0	0	?	0	.
0	0	0	0	0	0	0	0	.
0	0	0	0	0	0	0	0	.
0	0	0	0	0	0	0	0	.
0	0	0	0	0	0	0	0	.
0	0	0	0	+	+	0	0	.
0	0	0	0	0	0	+	+	+
0	0	0	0	0	0	0	0	.
+	+	0	0	0	0	0	0	.
.	.	+	+	0	0	0	0	.
.	.	.	.	.	.	+	0	.

1 ccm der 3-tägigen Bouillonkulturen gehen Kaninchen (800—1000 g) innerhalb 5—60 Min. zu Grunde. Die Vibrionen IX und XVI erwiesen sich in derselben Menge weniger giftig, indem die Tiere erst nach einigen Stunden zu Grunde gingen.

Die Symptome, unter welchen der Tod der Tiere erfolgt, sind ganz gleich wie die durch die Gifte der 6 El Torstämme oder des *Vibrio* Nasik hervorgerufenen. Diese filtrierbaren Gifte erzeugen im Organismus Antitoxine, welche im stande sind, die Giftwirkung aufzuheben. Interessanter ist aber wieder die Erscheinung, daß das Antitoxin, gewonnen mit einzelnen dieser Stämme, nicht nur das Toxin dieser Vibrionen zu neutralisieren vermag, sondern auch Toxine der 6 El Torstämme.

Ebenso lassen sich, wie aus folgendem Versuche hervorgeht, die akut wirkenden Toxine dieser Vibrionen mit Antitoxin, gewonnen mit Toxin der 6 El Torvibrionen, paralisieren.

Toxin des Vibrio	Antitoxin des Vibrio	Intravenös gleichzeitig injiziert	Resultat	Kontrol.
0,5 ccm V. I	0,1 Ser. Vibr. V spez.	K. 59	lebt	K. 161 + in 1 Std.
1,0 ccm V. III	1,0 Ser. Vibr. V <sup>1)</sup> spez.	K. 120	lebt	K. 61 + in 5 Min.
1,0 ccm V. VIII	0,1 Ser. Vibr. V	K. 12	lebt	K. 41 + in 10 Min.

Wir sehen hier wiederum, was für das Hämotoxin dieser Vibrionen festgestellt werden konnte, daß das Toxin der biologisch differenten El Torvibrionen funktionell und auch biologisch sich als identisch erweist mit dem der 6 El Torvibrionen. Nachdem sich erwiesen hat, daß sich die Produktion eines Hämotoxins sehr häufig mit der eines akut wirkenden Toxins vergesellschaftet, wurden in der von uns geübten Weise die Vibrionen Massaua, Elvers-35 untersucht. (Den *Vibrio* 35

1) In diesem Versuch ist 1,0 ccm mehr als die letale Dosis daher auch mehr Serum zur Neutralisation notwendig. Nach früheren Versuchen vermag aber normales Ziegen Serum in diesen Mengen die einfach letale Dosis dieser Gifte nach Mischung und sofortiger Injektion wirksam zu machen.



haben wir vor ca. 2 Jahren durch die Freundlichkeit des Herrn Prof. Kolle erhalten. Wir vermuten, daß er mit dem *Vibrio* 35 identisch sein dürfte, welcher in der Arbeit von Kolle und Gottschlich angeführt ist. Dieser *Vibrio* entstammt aus dem Darne einer unter choleraähnlichen Erscheinungen verstorbenen Araberin. Die biologische Reaktion ergab, daß dieser *Vibrio* kein *Cholera*vibrio sei.) Diese 3 Vibrionen erwiesen sich außer hämotoxisch auch ebenso toxisch wie die bisher beschriebenen. Die folgenden Versuche zeigen, daß auch hier wieder die Gattungsspezifität der Toxine nachweisbar ist.

Toxin des Vibrio	Antitoxin des Vibrio	Intravenös gleich- zeitig injiziert	Resultat	Kontrol.
1,0 V. Elvers	0,5 Ser. V. El Tor V spez.	K. 189	lebt	K. 104 + in 5 Min.
1,0 V. Massaua	0,2 Ser. V. El Tor V	K. 61	lebt	K. 155 + in 1 Std.
	0,2 Ser. V. El Tor IV	K. 189	lebt	
0,5 V. El Tor V spez.	0,2 Ser. V. Massaua	K. 48	lebt	} k. 424 + in 5 Min.
0,5 V. El Tor V spez.	0,2 Ser. V. Elvers I	K. 141	lebt	

Demnach lassen sich die Toxine dieser Vibrionen, sowie das Gift des *Vibrio* Nasik, durch Antitoxine gewonnen mit Toxinen biologisch verschiedener Vibrionen neutralisieren, sowie auch umgekehrt Antitoxine gewonnen, mit Toxinen dieser Vibrionen Toxine der El Torstämme unwirksam machen.

Damit sei vorderhand die Tatsache als feststehend hingestellt, daß die 6 choleraartigen El Torvibrionen, die 32 choleraähnlichen (soweit sie untersucht wurden) El Torvibrionen, der *Vibrio* Nasik, Massaua, Elvers, V. No. 35 (Gottschlich), akut wirkende Toxine produzieren, welche nach dem Ausfall des Antitoxinversuches als identisch angesehen werden müssen.

Ob die Toxinproduktion der Vibrionen mit einer eventuellen pathogenen Wirkung in Beziehung steht, müssen wir vorderhand ungelöst lassen. Weitere bakteriologische Untersuchungen choleraähnlicher Krankheitsfälle werden darüber entscheiden. Daß auch Vibrionen aus Wasser gezüchtet toxinbildende Eigenschaften zukommen, dafür sprechen Versuche, die wir mit Vibrionen, welche uns Herr Prof. Dunbar (Hamburg) seinerzeit zur Verfügung gestellt hat, ausgeführt haben. Zur Untersuchung gelangten Vibrionen 248, 275, 299, 320, 361, 463, 250. Diese Vibrionen des Hamburger hygienischen Institutes stammen aus dem Elbwasser und lassen sich vom *Cholera*vibrio streng differenzieren. Bei der Prüfung auf Hämotoxin und akut wirkendes Toxin ergab sich, daß alle Vibrionen Hämotoxin produzieren und einzelne auch (Vibrionen 361, 463, 320, 299) akut wirkendes Toxin. Damit wäre ein Anhaltspunkt gewonnen, in welcher Richtung die weiteren Untersuchungen sich bewegen müßten. Es wird zu entscheiden sein, ob die bei Menschen in El Tor gefundenen Vibrionen auch im Wasser vorkommen, ob sie bloß Wasservibrionen sind oder ob diesen auch eine pathogene Bedeutung zukommt. Wie gesagt, wird hier nur die bakteriologische Analyse weiterer solcher Fälle Klarheit bringen können.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen beanspruchen nicht nur spezielles Interesse, sondern eröffnen auch allgemeinere Gesichtspunkte. Hier erfahren wir, daß biologisch verschiedene Bakterien, die morpho-

logisch kulturell fast identisch sind, eine Eigenschaft besitzen, welche bisher als artspezifisch angesehen, einer Gattung zukommt. Ob die Agglutination für diese Vibrionen eine artspezifische Reaktion bedeutet, soll vorderhand dahingestellt bleiben. Sicher läßt sich daraus ableiten, daß die Agglutination zur Charakterisierung der Vibrionen nicht durchführbar ist. Das eine bleibt unverstänlich, daß die 6 El Torstämme untereinander agglutinatorisch sich gleich verhalten und außerdem biologisch identisch sind mit dem Cholera-stamm. Solche Vibrionenarten lassen sich mittels der biologischen Reaktionen sicher als bestimmte Arten von den anderen Vibrionen charakterisieren. Daß aber die biologische Reaktion nicht im stande ist, zwei Arten die sich gleich biologisch verhalten wie die 6 El Torvibrionen, und der Cholera-vibrio abzugrenzen, geht bereits aus der Arbeit von Prausnitz u. A. hervor. Diese Spezifizierung ist bloß durch den Nachweis des Hämotoxins und des Toxins ermöglicht<sup>1)</sup>. Eine exakte gattungsspezifische Reaktion für Bakterien stand aus. Die Antihämotoxine dieser Bakteriengifte ermöglichen eine Bestimmung der Zugehörigkeit zur Gattung. Sollte es sich in weiteren Untersuchungen herausstellen, daß die giftbildenden Vibrionen als besondere Arten anzusehen sind, indem sie sich pathogen für den Menschen erweisen, hätten wir in der antitoxischen eine exakte Methode zur Bestimmung dieser Vibrionen.

*Nachdruck verboten.*

## Die Vaccination gegen Diphtherie. Vorläufige Mitteilung<sup>2)</sup>.

Von

**Prof. Dr. Ivo Bandi,**  
Dozent für Hygiene und Kondirektor  
des Institutes für Serotherapie in  
Toscana.

und

**Prof. Dr. Enrico Gagnoni,**  
Dozent für Pädiatrie und Direktor der  
Kinderabteilung der kgl. medizinischen  
Universitätsklinik in Siena.

Uebersetzt von Dr. Kurt Tautz - Berlin.

(Schluß.)

### Erste Gruppe.

#### Injektion von reinem Antidiphtherievaccin.

##### 1. Fall.

V. B., Diener des Institutes für Serotherapie in Toscana. Vor der Vaccination Untersuchung des Blutes auf spezifische Prinzipien. Resultat negativ. Am 10. Mai 1905

1) Nachtrag während der Korrektur. Wir können nach den Untersuchungen von Brau und Dencer (Compt. rend. de l'acad. d. sc. 1906. Mars) den Mangel einer Toxinproduktion in vitro nicht mehr für charakteristisch für den Cholera-vibrio Koch aufrecht erhalten, nachdem wir uns selbst überzeugt haben, daß die uns von Salimbeni freundlichst überlassenen Cholera-stämme sowohl kulturell als agglutinatorisch sich völlig identisch mit dem Cholera-vibrio Pfeiffer verhalten, aber ein lösliches Toxin produzieren. Von den 6 El Torstämmen unterscheiden sich diese Cholera-vibrionen dadurch, daß sie kein Hämotoxin produzieren, also darin mit dem Typus des Cholera-vibrio übereinstimmen. Damit erscheint der Mangel eines Hämotoxins für den Cholera-vibrio nach unseren Untersuchungen noch ebenso charakteristisch, als der Eine von uns es bereits hervorgehoben hat. Die Frage nach der Identität der Toxine dieser Cholera-vibrionen mit denjenigen der Vibrionen soll in einer weiteren Arbeit ausführlich behandelt werden.

2) Der kgl. Akademie der Fisiocritici zu Siena in der Sitzung vom 30. Juni 1905 vorgelegt.

Injektion von  $2\frac{1}{2}$  ccm natürlichen Vaccins in das rechte Hypochondrium. Leichte lokale Reaktion und Schmerzhaftigkeit, die innerhalb 3 Tagen verschwinden; Temperatur bleibt normal. 6 Tage nach der Injektion wird ein Aderlaß vorgenommen. Die Prüfungen des Serums ergeben, daß 1 ccm desselben im stande ist, Meerschweinchen gegen die doppelte minimale letale Dosis des Diphtherietoxins und die einfache letale der Diphtheriekultur zu schützen.

Diejenigen Meerschweinchen, denen 1 ccm des Serums und die 3-fache minimale tödliche Dosis injiziert ist, gehen einen Tag später als das Kontrolltier zu Grunde.

Am 22. Juni 1905 wird ein zweiter Aderlaß vorgenommen. Die Serumversuche ergeben dasselbe Resultat wie beim ersten Aderlasse.

## 2. Fall.

(Abteilung für ansteckende Krankheiten der medizinischen Klinik [Kinderabteilung].)

M. G., 21 Jahre. In der Rekonvaleszenz nach Varicellen. Die vor der Vaccination vorgenommene Untersuchung des Blutes läßt keine spezifische Wirkung desselben erkennen. Am 25. Mai 1905 Injektion von  $1\frac{1}{2}$  ccm Vaccin in das linke Hypochondrium. Keine nennenswerte lokale und allgemeine Reaktion. Am 12. Juni Aderlaß. Die Prüfung des Serums ergibt, daß 1 ccm desselben Meerschweinchen gegen die minimale letale Toxindosis schützt. Ein Meerschweinchen, dem die kleinste tödliche Dosis von Diphtheriekultur und 1 ccm Serum injiziert ist, wird zwar krank, erholt sich aber nach einigen Tagen und ist noch jetzt am Leben.

## 3. Fall.

(Abteilung für ansteckende Krankheiten etc.)

F. A., 14 Jahre. In der Rekonvaleszenz nach Masern. Das vor der Vaccination untersuchte Serum zeigt eine gewisse spezifische antitoxische Wirkung. 2 ccm desselben schützen ein Meerschweinchen gegen die kleinste letale Toxindosis.

Am 26. Mai erhält Pat. 2 ccm Vaccin. Leichte Schmerzhaftigkeit und Rötung an der Injektionsstelle. Temperatur normal. Keine Veränderung von seiten der Niere. Am 6. Juni Aderlaß. Die Versuche mit dem Serum ergeben, daß  $\frac{1}{2}$  ccm desselben ein Meerschweinchen schützt, dem die doppelte minimale letale Toxin- und die einfache letale Kulturdosis injiziert ist. Am 14. Juni findet eine zweite Vaccininjektion, und zwar von 3 ccm, statt. Nach 6 Tagen, also am 20. Juni, wird ein neuer Aderlaß vorgenommen. Die Prüfung des spezifischen Wertes des Serums ergibt, daß  $\frac{1}{2}$  ccm Meerschweinchen schützt, denen die 3-fache minimale letale Toxindosis injiziert ist. Ein Meerschweinchen, dem die doppelte tödliche Dosis der Diphtheriekultur einverleibt ist, wird durch  $\frac{1}{2}$  ccm des Serums am Leben erhalten.

## 4. Fall.

E. P., 19 Jahre. An einfacher Tonsillitis erkrankt. Die Untersuchung des Blutes vor der Vaccination ergibt, daß 3 ccm Serum den Tod eines Meerschweinchens, dem die kleinste tödliche Diphtherietoxindosis injiziert ist, um 2 Tage verzögern. Am 8. Juni erhält Pat. 2 ccm Vaccin. Keine nennenswerte lokale oder allgemeine Reaktion, abgesehen von einer schmerzlosen Verhärtung an der Injektionsstelle. Am 14. Juni findet eine zweite Injektion von 4 ccm Vaccin statt. Auch jetzt zeigt sich weder eine allgemeine noch lokale Reaktion.

Am 21. Juni wird ein Aderlaß vorgenommen. Mit dem Serum werden Versuche angestellt. Die Meerschweinchen, denen  $\frac{1}{2}$  ccm Serum und die 3-fache minimale tödliche Diphtherietoxin- und die einfache tödliche Diphtheriekulturdosis injiziert sind, zeigen keine Reaktion.

## 5. Fall.

Z. G., 6 Jahre. An Tonsillitis erkrankt. In dem vor der Vaccination untersuchten Blute lassen sich keine spezifischen Prinzipien nachweisen. Am 22. Juni erhält Pat. 1 ccm Vaccin. Keine allgemeine oder lokale Störung. Am 27. Juni Aderlaß. Wertprüfung des Serums. Meerschweinchen, denen 1 ccm Serum und die doppelte kleinste tödliche Diphtherietoxin- und die einfache letale Kulturdosis injiziert sind, zeigen keinerlei Reaktion.

## 6. Fall.

P. A., 20 Jahre. An Tonsillitis erkrankt. Die Untersuchung des Blutes vor der Vaccination auf spezifische Prinzipien ergibt ein negatives Resultat. Am 31. Mai erhält Pat. 1 ccm Vaccin. Nach der Vaccination zeigt sich nur eine leichte schmerzlose Verhärtung, die am 3. Tage wieder verschwindet. Am 7. Juni wird ein Aderlaß vorgenommen. Die Prüfung des Serums ergibt, daß 1 ccm Serum ein Meerschweinchen schützt, dem die minimale letale Toxindosis injiziert ist. Ein Meerschweinchen, dem die tödliche Kulturdosis und 1 ccm Serum injiziert sind, wird krank und stirbt unter dem Bilde der Kachexie nach 10 Tagen.

Am 14. Juni findet eine neue Injektion von 2  $\frac{1}{2}$  ccm Vaccin statt, welche keine nennenswerten lokalen oder allgemeinen Reaktionserscheinungen auslöst. Am 22. Juni wird ein zweiter Aderlaß vorgenommen. Die Prüfungen des Serums lassen keine Vermehrung seiner antibakteriellen oder antitoxischen Wirkung erkennen.

#### 7. Fall.

D. L., 35 Jahre. An Angina follicularis erkrankt. Die Blutuntersuchungen vor der Vaccination geben negative Resultate. Am 22. Juni erhält Pat. 2 ccm Vaccin, wodurch keine nennenswerten Reaktionserscheinungen hervorgerufen werden. Am 27. Juni findet ein Aderlaß statt. Meerschweinchen, denen 1 ccm Serum und die minimale letale Diphtherietoxin- und Kulturdosis injiziert ist, zeigen beide Reaktionen, jedoch in sichtbar geringerem Grade als die entsprechenden Kontrolltiere.

### Zweite Gruppe.

Individuen, welche Antidiphtherievaccin + eine gewisse Quantität bivalenten Antidiphtherieserums erhalten (Serovaccination).

#### 8. Fall.

G. O., 20 Jahre. In der Rekonvaleszenz nach Masern. Die Untersuchung des Blutes vor der Vaccination läßt keine spezifischen Eigenschaften erkennen. Am 26. Mai erhält Pat. 1 ccm Vaccin + 1 ccm bivalenten Serums, das einen antitoxischen Wert von 150 I.-E. pro Kubikcentimeter besitzt. Es erfolgt weder eine lokale noch allgemeine Reaktion. Am 1. Juni wird ein Aderlaß vorgenommen. Aus den Serumprüfungen ergibt sich, daß 1 ccm Serum im stande ist, Meerschweinchen gegen die minimale letale Diphtherietoxin- und Kulturdosis zu schützen.

Am 26. Juni wird ein zweiter Aderlaß ausgeführt. Die jetzt vorgenommenen Untersuchungen zeigen, daß der antitoxische und antibakterielle Wert des Serums unverändert geblieben ist.

#### 9. Fall.

V. O., 19 Jahre. In der Rekonvaleszenz nach Masern. Die vor der Vaccination ausgeführten Serumprüfungen ergeben ein negatives Resultat. Am 26. Mai erhält Pat. eine Injektion von 2 ccm Vaccin in das rechte und 1 ccm bivalenten Serums in das linke Hypochondrium. Keine nennenswerte Reaktion. Am 26. Juni wird ein Aderlaß vorgenommen. Die Prüfungen des Serums ergeben, daß 2 ccm desselben Meerschweinchens gegen die 3-fache minimale letale Toxin- und die doppelte tödliche Kulturdosis schützen.

#### 10. Fall.

I. A., 10 Monate. An Masern erkrankt. Erhält am 2. Juni 1 ccm Vaccin zusammen mit 1 ccm bivalenten Antidiphtherieserums. Es zeigt sich keine allgemeine oder lokale Reaktion, abgesehen von einer leichten Verhärtung an der Injektionsstelle, die nach 4 Tagen vollkommen verschwunden ist.

#### 11. Fall.

M. L., 2 Jahre. An einem masernähnlichen Erythem erkrankt. Am 26. Mai erhält Pat. 1 ccm Vaccin + 1 ccm bivalenten Serums. Keine lokale oder allgemeine Reaktion.

(Die beiden Fälle, bei denen wir weitere Untersuchungen für unangebracht hielten, zeigen, wie auch von ganz jungen und noch dazu geschwächten Organismen das Antidiphtherievaccin vertragen wird.)

#### 12. Fall.

G. M., 12 Jahre. An einfacher phlegmonöser Tonsillitis erkrankt. Die vor der Vaccination vorgenommene Blutuntersuchung gibt folgendes Resultat. In einer Menge von 3 ccm schützt das Serum ein Meerschweinchen gegen die minimale letale Toxindosis und verzögert den Tod bei einem anderen Meerschweinchen, das mit der tödlichen Kulturdosis geimpft ist. Am 13. Juni erhält Pat. eine Mischung von 2 ccm Vaccin und 1 ccm bivalenten Serums. Es findet keine Reaktion statt. Am 25. Juni wird ein Aderlaß ausgeführt. Bei den Serumprüfungen zeigt sich, daß Meerschweinchen, denen das 3-fache der minimalen letalen Toxindosis und 1 ccm Serum injiziert ist, am Leben bleiben; ebenso widerstehen Meerschweinchen der Infektion, denen die doppelte tödliche Kulturdosis eingeimpft ist.

#### 13. Fall.

P. G., 15 Jahre. An Erysipel der linken Hand erkrankt. Die vor der Vaccination vorgenommene Untersuchung des Blutes ergibt, daß keine spezifischen Prinzipien vor-

handen sind. Am 31. Mai erhält Pat. in das rechte Hypochondrium 1 ccm Vaccin und in das linke 1 ccm bivalenten Serums. An der Injektionsstelle des Vaccins zeigt sich eine auf Druck schmerzhaft Verhärtung, die aber am 3. Tage wieder verschwindet; sonst kann man nichts Besonderes beobachten. Am 26. Juni wird ein Aderlaß ausgeführt. Die mit dem Serum angestellten Prüfungen ergeben, daß dasselbe in einer Quantität von 1 ccm Meerschweinchen gegen die 3-fache minimale letale Toxin- und die einfache letale Kulturdosis schützt.

#### 14. Fall.

G. A., 16 Jahre. An Masern erkrankt. Die vor der Vaccination vorgenommene Untersuchung des Blutes ergibt ein negatives Resultat. Am 31. Mai erhält Pat. eine Mischung von 2 ccm Vaccin und 1 ccm bivalenten Serums, ohne irgendwie Reaktionserscheinungen zu zeigen. Am 22. Juni wird ein Aderlaß vorgenommen. Das hierbei gewonnene Serum schützt in einer Quantität von 1 ccm Meerschweinchen gegen die doppelte minimale letale Toxin- und die einfache letale Kulturdosis.

Die Resultate unserer obigen vorläufigen Untersuchungen führen uns eine fundamentale Tatsache von der allergrößten praktischen Bedeutung deutlich vor Augen, daß man nämlich beim Menschen eine aktive antibakterielle und antitoxische Immunität gegen Diphtherie mittels Injektion einer Quantität von Antidiphtherievaccin, die zwischen 1 und 2 ccm schwankt, erzeugen kann, ohne daß irgend welche Reaktionserscheinungen auftreten; dabei muß man noch bemerken, daß unsere Untersuchungen zum größten Teile an Individuen vorgenommen wurden, die sich in der Rekonvaleszenz nach Infektionskrankheiten, also in einem Zustande von geschwächter Widerstandsfähigkeit, befanden. Die Tatsache, daß die Injektion von Bakterienleibern das Auftreten eines gewissen Grades von antitoxischer Immunität bedingt, ist schon bei der Präparation des antibakteriellen Antidiphtherieserums (Bandi) hervor gehoben worden. Zu erklären ist dies, wie gesagt, damit, daß an den Bakterienleibern immer eine gewisse Quantität Toxin haftet. Im Blute der Vaccinierten beobachtet man schon nach 6—7 Tagen eine beträchtliche Menge von Antitoxin und spezifischen Antikörpern.

Der Grad der durch die Antidiphtherieimpfung erzeugten Immunität steht in keiner engen Beziehung zu der Intensität, mit der der Organismus auf die Einführung des Vaccins reagiert hat, sondern nur innerhalb gewisser Grenzen zu der Quantität des injizierten Vaccins. (Dies entspricht übrigens auch den Beobachtungen, die man an den Serum produzierenden Tieren gemacht hat.)

Die Revaccination verstärkt in der Regel den Grad der durch die einfache Vaccination erzeugten Immunität. Auch in den Fällen, in denen das Experiment das Vorhandensein einer gewissen Menge spezifischer Prinzipien im Blute vor der Vaccination feststellte, vielleicht als Zeichen einer vorgeschrittenen diphtherischen Infektion, haben wir eine Erhöhung der Immunität durch die Vaccination beobachten können.

So wenig zahlreich und vollständig diese Experimente auch sein mögen, so erwecken sie doch in uns die Hoffnung, daß man eine aktive und passive Immunität durch gleichzeitige entweder räumlich getrennte oder gemeinsame Injektion der Diphtheriegifte und ihrer Antikörper erzielen kann, wenn nur die Quantität der Antikörper nicht allzu groß ist, wie es übrigens bei anderen Infektionskrankheiten der Fall ist; und jeder kann sich jetzt ein Urteil darüber bilden, welch einen großen Nutzen diese Methode in der Praxis haben kann.

So paradox in der Theorie auch die Möglichkeit erscheinen mag, zu gleicher Zeit eine aktive und passive Immunität durch gleichzeitige Injektion der Bakteriengifte und ihrer Antikörper hervorzurufen, so wollen wir doch gerade auf diesen Punkt ganz besonders unsere Auf-

merksamkeit richten, namentlich da sich der eine von uns (Bandi) hiermit seit einigen Jahren, wenigstens soweit es die Diphtherie betrifft, eingehend beschäftigt hat. Ihm gelang es nämlich, im Experiment bei Ziegen eine antibakterielle Hyperimmunisierung hervorzurufen, dadurch, daß er diesen Tieren täglich wachsende Dosen von Diphtheriebacillen injizierte, die entweder selbst sensibilisiert waren oder die Menge von „Sensibilisatrice“ fixiert hatten, die erforderlich war, um dort, wo die notwendigen Begleitumstände vorhanden waren, eine Bakteriolyse zu bewirken. Die Untersuchungen Bandis gehen bis auf den Februar 1902 zurück, und zwar werden in seiner Publikation vom September desselben Jahres in der „Revista medica de S. Paulo“ — „Ueber die Bereitung eines antibakteriellen etc. Diphtherieheilserums“ — 2 Fälle von menschlicher Diphtherie angeführt, die im April und Juli 1902 mit antibakteriellem Diphtherieheilserum behandelt sind, das man mittels Injektionen von sensibilisierten Diphtheriebacillen erhalten hatte. In diesem Artikel macht der Verf. auf die Tatsache aufmerksam, daß auf Grund der Ehrlichschen Immunitätstheorie die Erzeugung der aktiven Immunität mittels der oben beschriebenen Technik ein Paradoxon zu sein scheint; denn wir müssen bedenken, daß wir mit der Injektion der sensibilisierten Mikroorganismen die Menge von „Sensibilisatrice“ in den Organismus einführen, die ausreichend ist, um die Auflösung der Bakterienzellen von seiten des Komplementes zu bewirken. (In dem besonderen Falle des Diphtheriebacillus, aber übrigens auch bei vielen anderen Bakterien, vollzieht sich die Bakteriolyse unter Beihilfe eines dritten Prinzipes, das aller Wahrscheinlichkeit nach am Protoplasma der Leukocyten haftet.) Man begreift also nicht, wie in einem solchen Falle die übermäßige Bildung von „Sensibilisatrice“ einer funktionellen Hypersekretion zugeschrieben werden kann, die einen Verlust ausgleichen soll, der in unserem Falle gar nicht existiert. Gleichzeitig mit Bandi erhielt Besredka dieselben Resultate bei der aktiven Immunisierung gegen die Pest, Cholera und Typhus. Das, was für die antibakterielle Immunität bewiesen war, wurde auch von Bandi für die aktive antitoxische Immunität gegen Diphtherie bestätigt, indem er den Serum produzierenden Tieren an verschiedenen Körperstellen gleichzeitig das Diphtherietoxin und das antitoxische Diphtherieheilserum injizierte. Zur Bestärkung unserer Ueberzeugung von der Wirksamkeit der Serovaccination sei, abgesehen von den schon zitierten Beispielen, noch daran erinnert, daß auch Behring und Wernicke mittels gleichzeitiger Injektionen von Immunserum und Kultur ihren Versuchstieren eine gründliche Immunität gegen Diphtherie verliehen haben; auch die Versuche von Tizzoni über die Vaccination gegen Tetanus können wir nicht mit Stillschweigen übergehen, wir wollen vielmehr die Schlüsse, zu denen dieser Forscher bezüglich der Serovaccination gegen Tetanus gelangt, wörtlich wiedergeben: „Die Methode der Vaccination mittels Tetanuskulturen, die durch eine ausreichende Menge antitoxischen Serums neutralisiert sind, hat mir in einigen Fällen, und sogar bei solchen Tieren, die, wie das Meerschweinchen, sehr empfindlich gegen das Tetanusgift sind, sehr gute Resultate ergeben, und zwar sowohl in dem Falle, wo die Injektion des Serums getrennt und vor der Injektion der Kultur stattfand, als auch da, wo Serum und Kultur gleich nach vorhergehender Mischung im Reagenzglas dem Versuchstiere injiziert wurden.“ Und an einer anderen Stelle heißt es: „Diese Experimente zeigen uns also, daß das in vitro

durch eine ausreichende Menge antitoxischen Serums neutralisierte Tetanusgift ein ausgezeichnetes Vaccin darstellt.“

Mögen diese Resultate auch aus theoretischen Gründen noch so paradox erscheinen, und mögen sie auch in geradem Gegensatz zu den Ergebnissen stehen, die andere Forscher unter denselben Versuchsbedingungen erhalten haben, so können wir doch sagen, daß wir ein Faktum vor uns haben, das ein äußerst eingehendes Studium und auf praktischem Gebiete eine möglichst weitgehende Anwendung verdient; und so wollen wir auch mit der Serovaccination gegen Diphtherie verfahren.

Es bleibt uns nur noch übrig, die Dauer der mit dem Antidiphtherievaccin erzeugten Immunität zu bestimmen, und wir wollen nach dieser Richtung hin unsere Untersuchungen vertiefen und ausdehnen, wenn wir auch a priori mit gutem Rechte annehmen können, daß sie viel länger als die passive, mittels spezifischer Sera hervorgerufene Immunität dauern wird.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber die Färbung und die Gegenwart der Spirochäte Obermeyers in den Organschnitten der an Rückfallfieber verstorbenen Individuen<sup>1)</sup>.

[Aus dem Hygienischen Institut der Kgl. Universität Turin. Direktor: Prof. Dr. L. Pagliani.]

Von Privatdozent Dr. E. Bertarelli, Assistent.

Mit 4 Figuren.

Die Färbung der Spirochäte des Rückfallfiebers in den von Rückfallfieberkranken herrührenden Organschnitten ist schon im Jahre 1881 von Koch versucht worden. Er hat sich dazu der braunen Anilinfarben bedient. Doch waren die damit erhaltenen Ergebnisse so mittelmäßig, daß er selbst zugab, daß das Auffinden der Spirochäten in diesen Schnitten alles andere eher als einfach und leicht ist.

Hueppe riet später das Methylenblau zur Färbung dieser Schnitte an, doch haben wir keine Belege dafür, daß diese Methode jemals mit Erfolg angewandt worden ist, auch dann, wenn bei der Differenzierung die sauren Mittel (wie er besonders anempfahl) vermieden wurden.

Soudakewitsch hat in der im Jahre 1891 in den Annales de Pasteur erschienenen Arbeit über das Rückfallfieber eine andere Methode zur Färbung der Spirochäten in den Schnitten vorgeschlagen, die von ihm selbst versucht wurde (Färbung mit Bor-Karmin, Differenzierung mit Orthscher Lösung, darauf Färbung mit Methylenblau, indem auf einem Uhrglas dem dort befindlichen Wasser 3—4 Tropfen einer karbolsauren Methylenblaulösung beigelegt werden). Doch auch diese Methode erlaubte es, wie Verf. selbst berichtet, nicht, beweisende Ergebnisse zu erhalten, wenngleich sie weniger ungewiß war als die mit der braunen Färbung.

1) Bericht an die R. Accad. di Medicina di Torino mit Vorlage von Präparaten vom 16. Febr. 1906.

Soudakewitsch gelang es, bei Prüfung der Organe künstlich mit Wechselfieber infizierter Affen, nur die Spirochäten im Innern der Kapseln der verschiedenen Organe vorzufinden.

In den Ausstrichen erhielt er dann bedeutende und wichtige Einzelheiten über die Struktur der Spirochäten, über die Phagocytoseerscheinungen, über die Agglutinationsdisposition der Spirochäten, was er auf sehr veranschaulichenden Tafeln vor Augen führte.

Nach den glänzenden Resultaten, die die von Volpino und mir vorgeschlagene Reaktionsmethode mit Silbernitrat bei der Färbung der *Spirochaete pallida* in den Schnitten syphilitischer Organe gegeben hat, war es notwendig, daran zu denken, dieselbe Methode auch zum Studium der Lokalisation der Spirochäte Obermeyers zu verwenden.

Um geeignetes Material zu erhalten, habe ich mich an verschiedene russische Bakteriologen gewandt, deren einige mit größtem Entgegenkommen mir sofort das gewünschte Material überließen.

Die von mir befolgte Methode bestand in Imprägnation der Massen hydroalkoholischsaurer Silbernitratlösung, die von Volpino und mir<sup>1)</sup>

kürzlich vorgeschlagen worden ist und in der Tat beste Resultate lieferte. Bis heute habe ich nach Imprägnation einiger hundert Stücke nur wenige Mißerfolge zu verzeichnen. Unzweifelhaft scheint keine andere Modifikation, selbst nicht die Imprägnation in Nitrat mit Beizung in Pyridin so konstante und gute Resultate zu liefern.

Die Präparate gelingen ohne Niederschlag (ausgenommen selbstverständlich die färbbaren Körnchen des Protoplasmas). Die Spirochäten zeigen sich sehr schön in schwarzer Farbe und der Grund erscheint äußerst gut in goldgelb.

Die ersten Prüfungen wurden mit 2 Milzstücken eines am Rück-

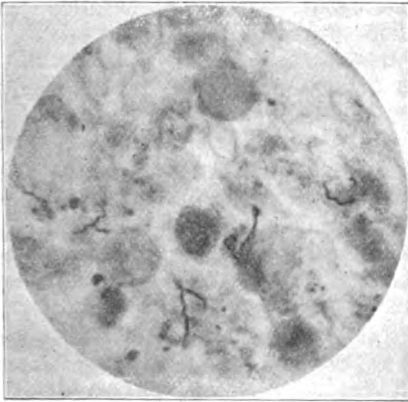


Fig. 1. Spirochäten in einem Milzschnitt.



Fig. 2.

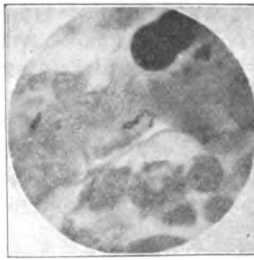


Fig. 3.



Fig. 4.

fallfieber verstorbenen Individuums angestellt, die mir von Prof. Wysockowicz in Kiew, dem ich hier lebhaften Dank abstatte, zugesandt

1) Bertarelli u. Volpino, Centralbl. f. Bakt., Abt. I. Bd. XLI. 1906.



worden sind. Die Stücke waren in Paraffin eingeschlossen und in Formalin fixiert. Nach Abnahme des Paraffins nach der gewohnten Methode versuchte ich die Imprägnation, die sehr gut gelang. Leider aber war es unmöglich, irgend welche Spirochätenform vorzufinden.

Späterhin zog ich in das Bereich meiner Untersuchungen ein reiches Material, das mir mit größter Freundlichkeit und Fürsorge von Prof. Gabritschewsky vom St. Katharina-Hospital in Moskau übersandt wurde, dem ich an dieser Stelle ebenfalls lebhaften Dank abstatte.

Die Stücke (schwammige Knochen mit Markfragmenten, Leber, Milz) entstammten einem in jenen Tagen an Rückfallfieber während eines Anfalles verstorbenen Individuum, das in seiner Blutbahn Spirochäten aufwies.

Die verschiedenen Stücke waren teils in Formalin, in Alkohol und in Sublimat fixiert.

Die mikroskopische Prüfung ergab hinsichtlich der Spirochäte Obermeyers folgendes:

Vor allem sind die Spirochäten infolge der Imprägnation in Silbernitrat deutlich gefärbt. In dieser Hinsicht sind sie in keiner Weise verschieden von der *Spirochaete pallida*: vielleicht färben sie sich nicht ganz so gut wie der Erreger der Syphilis, denn nur nach längerem Verbleiben im Silbernitratbade treten deutliche Formen zu Tage.

In der Milz sind die Spirochäten nicht sehr zahlreich. Schwerlich nur erhält man mehr als 1—3 in einem Feld, auch finden sie sich nicht an allen Stellen des Schnittes. Ihre Form erinnert etwas an das typische Aussehen der Spirochäte Obermeyers in den Ausstrichen, und nähert sich der nach Imprägnation in Silbernitrat erhaltenen Form der *Spirochaete pallida*. Jedenfalls sind die Windungen weit weniger dicht und fein. Die ganze Spirochäte ist gewunden und hat ziemlich weite Kurven.

Sehr selten nur sieht man Spirochäten mit 8—10 Kurven, sehr häufig sind dieselben in größere oder kleinere Stücke gespalten.

Einige sind gegen sich selbst zurückgebogen oder um sich selbst gewickelt, wieder andere haben die Kurven fast verloren, sind geradlinig oder doch fast so.

Bei einigen (wie dies übrigens schon von Soudakewitsch in den Ausstrichen wahrgenommen worden war) wird an einem ihrer Enden ein kopfartig runder Körper beobachtet. Doch scheint dieser Körper nicht gleichmäßig gefärbt zu sein, denn zuweilen kann der zentrale Teil des aufgeblähten Endstückes auch farblos erscheinen, was daran denken läßt, daß diese besonderen Körper mit färbbaren Rändern und gleichzeitig farblosem Zentralteil eine besondere Bedeutung haben können.

Es fehlen auch die phagocytierten Formen nicht, die sich im Innern der Leukocyten finden (sowohl in den vielkernigen wie in den einkernigen), doch sind diese Formen selten. Die meisten der in der Milz beobachteten Spirochäten sind extracellulär. Das nun wahrscheinlich auch, weil die phagocytierten Spirochäten sehr leicht die Färbung nicht mehr annehmen.

Die verschieden großen Fragmente der Spirochäten sind ebenso häufig im Innern der Elemente wie außerhalb derselben, was also beweist, daß in der Milz während des Anfalles die Zerstörung der Spirochäten lebhaft vor sich geht.

Auch in der Leber konnten seltene Spirochäten nachgewiesen werden, was die Beobachtungen der vorhergehenden Verff. verwirft, die das Vorhandensein der Spirochäten in diesem Organe in Abrede gestellt hatten.

In den Leberzellen (und das hat seine Bedeutung) lassen sich einige ganze oder zerstückelte Spirochäten ohne sichtbare Verletzungen antreffen. In einigen Fällen handelt es sich da um ganze, im Zellprotoplasma liegende Spirochäten, die teilweise gerade sind, teilweise stark gekrümmt.

In einigen Gebieten sind die endocellulären Spirochäten zahlreich, besonders in der Nähe der Blutgefäße (die eine ansehnliche Zahl Spirochäten enthalten). Sie finden sich im perivaskulären Lebergewebe sowohl frei wie auch in den Elementen selbst eingeschlossen vor.

Es tritt somit auch bei dem Rückfallfieber, wenngleich in bedeutend geringerem Maßstabe, das ein, was bei der erblichen Syphilis beobachtet wird, d. h. das endocelluläre Vorhandensein des Parasiten. Wie leicht verständlich bleibt auch in diesem Falle der von Levaditi hinsichtlich des Eindringens der *Spirochaete pallida* in die Elemente ausgesprochene Zweifel bestehen, ob es sich um ein vitales Eindringen des Parasiten in die Zelle handelt oder ob die Erscheinung ein Vorgang ante mortem ist, der nur eintritt, weil das Protoplasma schon einige seiner besonderen Eigenschaften der vitalen Widerstandsfähigkeit in den letzten Stunden seines Daseins verloren hat.

Wie dem nun auch sein möge, in jedem Falle ist die Beobachtung der Beachtung wert. Daß dies den Forschern, die das Rückfallfieber eingehender studierten, entgangen ist, hängt allein davon ab, daß ihnen eine Methode fehlte, die es ihnen gestattete, die Spirochäten deutlich vor Augen zu führen.

Auch in der Leber fehlen die an und für sich seltenen extracellulären Formen nicht, und ebensowenig die mit kopfartigem Ende und jene anderen mit nicht gleichmäßig gefärbter Endaufblähung, die an einen gut differenzierbaren Teil denken lassen.

Wahre Elektionslokalisationen lassen sich jedoch nicht beobachten, das Gegenteil also von dem, was sich bei Infektion mit *Spirochaete pallida* wahrnehmen läßt. Zwar sind die Spirochäten in der Nähe einiger Blutgefäße zahlreicher, doch ist der Befund niemals so typisch, wie bei der Syphilis.

In den Gefäßschnitten sind die Spirochätenformen deutlich sichtbar. Besonders in den Leberschnitten sind sie derart zahlreich, daß man in demselben Felde 6—7, zuweilen in Häufchen vereinigt, zuweilen auch vereinzelt, zu sehen bekommt.

Die Prüfung der Knochenmarksschnitte lieferte mir nichts Positives.

Eigentliches Knochenmark hatte ich nun auch freilich nicht zur Verfügung, sondern nur schwammige Knochen mit einigen Markstückchen.

Ich mußte somit notwendigerweise zur Entkalkung schreiten (in 1,5-proz. Salpetersäure) und kann somit nicht ausschließen, daß die Behandlung das Hervortreten der Spirochäten verhindert habe, da mit dem Gewebe die Silbernitratimprägnation bestens gelungen ist.

Alles zusammenfassend, war es mir also möglich, in den Milz- und Leberschnitten eines während eines Rückfallfieberanfalles verstorbenen Individuums die Spirochäte Obermeyers mittels gründlicher und andauernder Imprägnation in Silbernitrat nachzuweisen.

Die anderen von mir versuchten Methoden (Pappenheim, Giemsa, Weigert etc.) haben es niemals gestattet, das Vorhandensein der Spirochäten mit Sicherheit festzustellen.

Die Spirochäten treten in den Schnitten in etwas veränderter Form auf, wenn man diese mit den in den Ausstrichen wahrzunehmenden Gebilden vergleicht. Die kleine Zahl der Windungen jedoch, ihre weniger dichten und weiteren Kurven und das allgemeine Aussehen gestatten es, sie leicht von der *Spirochaete pallida* zu unterscheiden.

Unter den die Lokalisation der Spirochäten betreffenden Besonderheiten lenkt besonders eine die Aufmerksamkeit auf sich, auch deshalb schon, weil sie bis jetzt noch nicht beobachtet worden ist, d. h. das endocellulare Vorhandensein der zuweilen ganzen, zuweilen zerstückelten Spirochäten in den Leberzellen.

Unzweifelhaft geht nun aus diesen wenigen Daten als wahrscheinlich hervor, daß es mit der Silbernitratmethode gestattet sein wird, das Kapitel der pathologischen Anatomie zu vervollständigen oder zu verändern, besonders hinsichtlich der Verteilung und der Lokalisation der Spirochäten Obermeyers.

---

*Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einreichung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.*

---

## Inhalt.

- Anitschkow, N. N.**, Zur Frage über die Rolle der thermophilen Bakterien im Darmkanal des Menschen. (Schluß), p. 426.
- Bandi, Ivo und Gagnoni, Enrico**, Die Vaccination gegen Diphtherie. (Schluß), p. 487.
- Bandini, P.**, Die Wirksamkeit des Formalins und des Wasserstoffsuperoxyds in der Milch. (Schluß), p. 474.
- Bertarelli, E.**, Ueber die Färbung und die Gegenwart der Spirochäten Obermeyers in den Organschnitten der an Rückfallfieber verstorbenen Individuen, p. 492.
- Buerger, Leo**, Beitrag zur Kenntnis des Streptococcus mucosus capsulatus. (Forts.), p. 414.
- Diendonné**, Beiträge zur Aetiologie der Genickstarre, p. 418.
- Eijkman, C.**, Ueber natürliche Wachstumshemmung der Bakterien. (Schluß), p. 471.
- Eisenberg, Philipp**, Weitere Untersuchungen über den Mechanismus der Agglutination und Präzipitation. (Forts.), p. 459.
- Fuhrmann, O.**, Die Hymenolepis-Arten der Vögel. (Schluß), p. 440.
- Gohn, A., Mucha, V. und Müller, R.**, Beiträge zur Kenntnis der anaeroben Bakterien des Menschen. IV. Zur Aetiologie der akuten Meningitis. (Forts.), p. 401.
- Kraus, E. und Prantschoff, A.**, Ueber Choleravibrien und andere Vibrien. III. Ueber die Identität der Hämotoxine und der Toxine, der Vibrien sowie deren Antitoxine. (Schluß), p. 480.
- Manwaring, Wilfred H.**, On the so-called complementoid of hemolytic serum, p. 455.
- Minelli, Spartaco**, Ueber „Typhusbacillenträger“ und ihr Vorkommen unter gesunden Menschen, p. 406.
- Mühlens, P. und Hartmann, M.**, Zur Kenntnis des Vaccineerregers. (Schluß), p. 435.
- Müller, Reiner**, Zur Aetiologie der Geflügeldiphtherie, p. 423.
- Porges, O. und Prantschoff, A.**, Ueber die Agglutinabilität von Bakterien, besonders des B. typhi, p. 466.
- Rothberger, Jul. C.**, Ueber die Regeneration der Agglutinine nach Blutverlusten, p. 469.
- Schöppler, Hermann**, Eier von Oxyuris vermicularis L. im Wurmfortsatz, p. 453.
- Selter, Hugo**, Ueber eine durch schweine-seucheähnliche Bacillen hervorgerufene Lungenerkrankung der Kaninchen, p. 432.
- Silberstrom**, Ueber die Artenheit der Streptokokken, p. 409.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber die infektionsbefördernde Wirkung steriler Exsudate.

[Aus dem staatlichen serotherapeutischen Institut in Wien. Vorstand: Prof. R. Paltauf.]

Von Dr. R. Doerr, k. u. k. Regimentsarzt.

Bei einer kleinen Gruppe bakterieller Infektionen, zu welchen der Tetanus, die Diphtherie und zweifellos auch die Dysenterie (Typus Kruse) gehören, können wir die Pathogenese der einzelnen Krankheits-symptome sowie den Immunitätsmechanismus in einwandfreier Weise erklären. Die Bakterien, deren Invasion in den menschlichen Organismus diese Krankheiten hervorruft, sezernieren sämtlich lösliche, stark giftige Produkte, die Toxine, die nach ihrer Resorption Allgemeinsymptome oder Erscheinungen in entfernten Organen erzeugen, ohne daß eine weitere Verbreitung der Erreger über ihre primäre Ansiedelungs-stätte hinaus erfolgen würde. Diese Toxine sind in vitro leicht darstellbar und entfalten im Tierkörper charakteristische Wirkungen, welche ein genaues experimentelles Studium ermöglichen; ihre Verankerung an allerdings noch nicht näher bekannten Körperzellen löst nach Ehrlich die Produktion von Antitoxinen aus, die, im Blute kreisend, neuentstandenes oder von außen zugeführtes Toxin binden und so die Organe vor einer abermaligen Vergiftung zu schützen vermögen.

Die weitaus größere Zahl der für die Menschen pathogenen Mikroorganismen, vor allem die Erreger der septikämischen Erkrankungen, die Erreger des Typhus und der Paratyphen und viele andere bilden jedoch, soweit bisher bekannt, keine löslichen Toxine; wenigstens ist die Darstellung derselben mit den bisher üblichen Methoden nicht gelungen. Auch die Annahme endocellulärer Gifte, welche erst durch Lyse der Bakterienleiber in den Körpersäften frei werden, ist nur für wenige Species (z. B. die Typhusbacillen) gerechtfertigt; für viele andere, z. B. den Anthraxbacillus, hat diese Hypothese keine experimentelle Stütze gefunden. Die Bedingungen, unter welchen die Bakterien dieser zweiten größeren Gruppe virulent werden, d. h. nach Ueberwindung der natürlichen Schutzkräfte ungehindert zu wachsen vermögen, die Mittel, welche sie zu ihren pathogenen Wirkungen befähigen, das Zustandekommen der Heilung, endlich das Wesen der in manchen Fällen zurückbleibenden Immunität, stellen eine Reihe von Problemen dar, die noch immer einer völlig befriedigenden Lösung harren.

Bail hat nun versucht, durch Einführung einer neuen Vorstellung, der „Aggressivität“, das Verständnis dieser vielfach unklaren Vorgänge zu fördern. Er versteht darunter „die Eigenschaft von Bakterien, im Körper eines Tieres wachsen zu können, was erst nach Ueberwindung der natürlichen Schutzkräfte desselben erfolgen kann“<sup>1)</sup>. Diese Eigenschaft besitzen verschiedene Bakterien in verschieden hohem Grade; danach unterscheidet er 1) reine oder obligat invasive Parasiten (Milzbrand beim Meerschweinchen); 2) Halbparasiten oder fakultativ invasive (Typhus-, Dysenteriebacillen, Choleravibrionen, Staphylokokken für das-

1) Bail, Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 39 u. 40.

selbe Versuchstier) und endlich 3) Saprophyten. Zur ersten Gruppe gehören jene Arten, „die sich<sup>1)</sup> unter allen Umständen im Tierkörper vermehren können, während Halbparasiten dazu nur bei Einimpfung größerer Mengen im stande sind und Saprophyten dies überhaupt nicht vermögen“.

Diese „Aggressivität“ ist aber nicht nur eine immaterielle, bloß den lebenden Bakterien adhärierende Eigenschaft. Dieser Begriff würde sich ja, trotz Bails Verwahrung, in allen wesentlichen Punkten völlig mit dem der „Virulenz“ decken<sup>2)</sup>. Die „Aggressivität“ kann an pathologische Flüssigkeiten, vornehmlich Exsudate von den Bakterien, abgegeben werden; befreit man solche Exsudate von den lebenden Keimen (durch Zentrifugieren, Sterilisation mit Toluol), dann wirken die restierenden Flüssigkeiten nach Bail „aggressiv“, sie halten die natürlichen Schutzkräfte des Organismus, die entgiftenden Phagocyten, ferne, und verhelfen, mit subletalen Bakterienmengen injiziert, diesen zu ungehindertem Wachstum und Entfaltung deletärer Wirkungen. Natürlich kann dieses „Übergehen der „Aggressivität“ von den Bakterien auf Gewebsflüssigkeiten im Tierkörper nur so verstanden werden, daß bestimmte Stoffe von den lebenden Bakterien sezerniert werden müßten, „wie etwa das Tetanustoxin von den Tetanusbacillen“. Diese nennt Bail die „Aggressine“. Er will damit zunächst nur „materialisierte Eigenschaften(?)“ bezeichnen. Aber es ist wohl klar, daß eine Eigenschaft, oder wohl richtiger ausgedrückt, eine Wirkung einer Flüssigkeit, die keine lebenden Zellen mehr enthält, nur bedingt sein kann durch bestimmte, darin gelöst enthaltene, wenn auch chemisch nicht darstellbare Körper.

Auf diese infektionsbefördernde Wirkung keimfrei gemachter Exsudate stützt sich die ganze experimentelle Begründung der „Aggressintheorie“.

Die Bedeutung der Bakteriolyse für die Immunität stellt Bail in Abrede. Er findet eine neue, die „Aggressinimmunität“. Diese kann, ähnlich wie die antitoxische, aktiv sein, und wird dann erhalten durch Vorbehandlung mit solchen zellfreien, sterilen Exsudaten oder passiv, bei Injektion des Serums aktiv „aggressinimmuner“ Tiere.

In einer großen Zahl von Veröffentlichungen hat Bail und seine Schüler (Kikuchi, Weil) versucht, die Richtigkeit seiner Hypothesen für die meisten pathogenen Bakterien zu beweisen, nicht ohne dabei auf Widerspruch zu stoßen. So haben Wassermann u. Citron<sup>3)</sup> gezeigt, daß es auch ohne Mithilfe des tierischen Körpers (durch Ausschütteln der Bakterien mit Wasser) gelingt, Flüssigkeiten von infektionsbefördernder Wirkung zu erzeugen; nach ihrer Ansicht stellen die „Aggressine“ einfache Bakterienextrakte dar, die durch Abhaltung resp. Bindung der natürlichen Schutzstoffe das ungehinderte Wachstum unter-

1) Bail, Arch. f. Hyg. Bd. LIII.

2) Wenn Bail (Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 39) sagt: „Ein Diphtheriebacillus kann sehr virulent sein ohne Aggressivität; er tötet durch seine Giftigkeit die Tiere, er vermehrt sich in ihrem Inneren wahrscheinlich gar nicht, jedenfalls aber nur sehr wenig“, so ist dazu zu bemerken, daß man bei den Toxinbildnern auch vor Bail nur die Intensität der Giftproduktion unter dem Worte Virulenz verstanden hat. Ein avirulenter Diphtheriestamm ist ein atoxischer, d. h. eine Rasse, der die Toxinproduktion mangelt. Bei den anderen Bakterien deckt sich aber die Virulenz mit der Bailschen Aggressivität. Man verstand darunter immer nur den Grad der Vermehrungsfähigkeit im infizierten Organismus. Ohne Vermehrung der eingeführten Keime kann der Tierkörper, bei nicht Toxin produzierenden Arten, nicht erkranken.

3) Deutsche med. Wochenschr. 1905. No. 28.

tödlicher Bakteriendosen, d. h. eine wirksame Infektion ermöglichen. Ebenso sind Pfeiffer und Friedberger<sup>1)</sup> bei ihren Experimenten über „Hemmungssera“ zu Anschauungen gelangt, die gegenüber der Aggressinlehre wesentliche Differenzen aufweisen.

Schließlich nimmt auch eine 1905<sup>2)</sup> erschienene Mitteilung „über das sogenannte Dysenterieaggressin“ zu dieser Frage Stellung. Im wesentlichen verfolgte diese Publikation allerdings nur den Zweck, mit Nachdruck darauf hinzuweisen, daß die Ruhrerkrankung beim Menschen eine Vergiftung mit den Toxinen der Kruseschen Bacillen darstellt und daß Kikuchis<sup>3)</sup> Versuche an peritoneal infizierten Meerschweinchen (die bekanntlich gegen das Dysenterietoxin völlig refraktär sind) für die Erklärung der dysenterischen Infektion beim Menschen und die Bedeutung der antitoxischen Serotherapie einfach belanglos sind.

Bei der Nachprüfung der Experimente Kikuchis wurden jedoch schon damals Resultate erhalten, die eine Deutung im Sinne Bails gar nicht zuließen und daher die Gültigkeit seiner Lehre auch für die peritoneale Infektion von Meerschweinchen mit Ruhrbacillen sehr in Frage stellten. Es war daher angezeigt, diese Verhältnisse auch bei den Typhusbacillen, Choleravibriolen, Staphylokokken (Halbparasiten nach Bail) zu untersuchen. Die Bearbeitung der Septikämieerreger (Milzbrand, Hühnercholera) nach dieser Richtung mag später an anderer Stelle besprochen werden.

Die angestellten Experimente konzentrierten sich naturgemäß auf die Prüfung der infektionsbefördernden Wirkung keimfrei gemachter Exsudate, da diese, wie auch Bail betont, die Grundlage aller späteren Untersuchungen bildete.

Nun ist es ja von vornherein nicht unwahrscheinlich, daß in die Exsudate sezernierte oder durch Bakteriolyse frei gewordene Bakterienprodukte übergehen, die toxisch auf das Versuchstier wirken und so wie irgendeine andere Schädigung des Organismus seine Widerstandsfähigkeit herabsetzen, so daß derselbe geringeren Dosen lebenden Infektionsmaterials unterliegt, als ein gleichartiger normaler Organismus. Selbstverständlich hätte diese Förderung der Infektion durch gleichzeitige Vergiftung nichts mit der Bailschen Auffassung zu tun.

Der Gehalt völlig klarer, zentrifugierter, zellfreier und durch Toluol sterilisierter Exsudate an gelösten Bakterienderivaten läßt sich tatsächlich, wie auch von anderer Seite betont wurde, leicht mit Hilfe spezifisch präzipitierender Sera nachweisen.

#### I.

Zell- und keimfreies (auch mikroskopisch) völlig klares Typhusexsudat, gewonnen durch i. p. Injektion von 2 Oesen Typhusagarkultur (Meerschweinchen 29), in steigenden Verdünnungen mit physiol. NaCl-Lösung, versetzt mit je 0,1 ccm Typhusserum „Edgar“.

Menge des Exsudates	Resultat nach 8 Stunden
1,0 ccm	reichliche Präzipitate
0,1 „	große Flocke
0,01 „	kleine Flocke
0,001 „	+

Kontrolle: 1 ccm Exsudat + 0,1 normales Pferdeserum bleibt klar.

1) Deutsche med. Wochenschr. 1905. No. 1 u. 29.

2) Wien. klin. Wochenschr. 1905.

3) Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. LXX. 1905.

## II.

Choleraexsudat, behandelt wie bei I, von einem mit 2 ccm Exsudat i. p. infizierten Meerschweinchen No. 273 (+ nach 10<sup>h</sup>), versetzt in steigender Verdünnung mit je 0,1 ccm Choleraserum „Diana“.

Menge des Exsudates	Resultat nach 8 Stunden
1,0 ccm	sehr reichlich Präzipitate
0,1 „	große Flocke
0,01 „	zahlreiche kleine Flocken
0,001 „	ϕ

Kontrolle: 1,0 ccm Exsudat + 0,1 norm. Pferdeserum bleibt klar.

Die Toxizität der in den sogenannten „aggressiven“ Flüssigkeiten Bails enthaltenen Bakterienderivate ergibt sich aus ihrer Wirkung auf den Tierkörper. So töten keimfrei-gemachte, völlig klare, durch intraperitoneale Injektion von Meerschweinchen mit Kruse-Bacillen hergestellte Exsudate schon in sehr geringen Dosen Kaninchen bei intravenöser oder subkutaner Injektion unter den typischen paralytischen Erscheinungen. Auch am Meerschweinchen selbst läßt sich für alle „Halbparasiten“ erweisen, daß die toluolisierten und zentrifugierten Exsudate an sich giftig wirken, wenn auch erst in größeren Mengen. Die Tiere gehen nach intraperitonealer Injektion marantisch ein, nach großen Dosen oft schon in wenigen Tagen (siehe No. 2, No. 3 und No. 194). Die Sektion ergibt äußerste Abmagerung und ein völlig steriles Peritoneum.

Meerschweinchen	Art des „Aggressins“	Dosis	Datum	Resultat
2	Dysenterie (Kruse)	2 ccm	8. Aug. 05	+ 12. Aug. 05
3	„	2 „	5. Aug. 05	+ 14. Aug. 05
192	Cholera	2 „	25. Febr. 06	+ 27. März 06
194	„	5 „	25. Febr. 06	+ 28. Febr. 06
33	Staphyloc. alb.	3 „	16. Okt. 05	+ 16. Nov. 05
7	„ aur.	1,5 „	16. Okt. 05	+ 24. Okt. 05

Denselben Effekt kann man durch Injektion subletaler Mengen eines Toxins (Diphtherietoxin) oder, was hier mehr in Betracht kommt, durch abgetötete Bakterienleiber erzielen.

Wirkung abgetöteter (1<sup>h</sup> bei 58° C) Bakterien.

Meerschweinchen	Injizierte Art	Dosis	Datum	Resultat
63	Typhus (subkutan)	1,0 Agarkultur	1. März	+ 6. März
7	„ (i. p.)	0,5 „	1. März	+ 2. März
180	„	0,2 „	24. Febr.	+ 3. März
13	Staph. aur. (i. p.)	0,2 „	25. Okt. 05	+ 25. Nov. 05
149	Cholera (CHCl <sub>3</sub> )	0,3 „	22. Febr.	+ 9. März
153	„	0,1 „	22. Febr.	+ 26. Febr.
46	Dysenterie (Kruse)	0,2 „	25. Okt.	+ 8. Nov.
51	„	0,4 „	25. Okt.	+ 26. Okt.
50	„	0,6 „	25. Okt.	+ 26. Okt.
48	„	1,0 „	25. Okt.	+ 26. Okt.

Es zeigt sich bei den Versuchen mit abgetöteten Bakterien, daß nicht alle geprüften Arten gleich wirken, sondern daß toten Typhus- und Dysenteriebacillen eine viel höhere Giftigkeit innewohnt, als Cholera-vibrionen und Staphylokokken<sup>1)</sup>. Bei den ersteren sehen wir den Tod

1) Wenigstens lagen die Dinge so bei den von uns verwendeten, längere Zeit nicht durch Tiere passierten, und daher wenig virulenten Kulturen; derartige Stämme hat ja auch Bail und seine Schüler benützt (s. insbes. Cholera-versuche).

der Tiere nach großen Dosen sogar akut eintreten, auch ohne jeden Aggressinzusatz, was gegenüber einem Experimente Bails<sup>1)</sup> ausdrücklich hervorgehoben werden muß. Der Sektionsbefund ist dann (bei intraperitonealer Injektion) oft völlig gleich demjenigen, den Bail als charakteristisch für die „Aggressinwirkung bezeichnet: reichliches, klares Exsudat in der Bauchhöhle, keine Fibrinauflagerungen auf der Leber, keine Phagocyten oder Leukocyten (Meerschweinchen No. 140, No. 50 und No. 48). Damit steht in Uebereinstimmung, daß auch die mit Typhus- oder Dysenteriebacillen hergestellten „aggressiven“ Flüssigkeiten an sich stärker toxisch wirken, als toluolisierte Staphylokokken- oder Choleraexsudate, und daß die mit ersteren kombinierten Injektionen subletaler Bakteriendosen häufiger positive Resultate im Sinne Bails ergeben.

Berücksichtigt man nun, daß wir<sup>2)</sup> ja gar nicht wissen, welche Bakterienmengen bei der peritonealen Infektion der Auflösung anheimfallen, daß wir dieselben (nach Radziewsky) aber sicherlich nicht zu gering anschlagen dürfen, daß ferner die infektionsbefördernde Wirkung keimfrei gemachter Exsudate nur beträchtlichen Dosen zukommt, so hätten wir jedenfalls schon im Gehalte solcher Flüssigkeiten an gelösten Keimen eine zureichende Erklärung, warum sie (besonders bei Typhus und Dysenterie) den Verlauf einer Infektion mit relativ geringen Mengen lebender Kultur schwerer oder tödlich gestalten könnten, während gleichgeimpfte Kontrollen ohne Zusatz von „Aggressin“ überlebten.

Fügen wir einer für das Kontrolltier<sup>3)</sup> subletalen Dosis lebender Keime eine an sich nicht akut tötende Menge abgetöteter Kultur hinzu, dann sehen wir, mindestens ebenso häufig wie bei Zusatz „aggressiver“ Flüssigkeiten jenen Erfolg eintreten, den Bail als Beweis für seine Hypothese verwendet (Versuch 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7). Dabei ist es gleichgültig, ob die abgetötete Kultur derselben Art angehört, wie die lebenden Bakterien oder nicht; nur wirken auch hier Dysenterie- und Typhusbacillen besser als Cholera vibrionen oder Staphylokokken.

Statt der abgetöteten Kultur kann man auch untertödliche Dosen irgendeines Giftstoffes, z. B. des Diphtherietoxins (bei Meerschweinchen) wählen (Versuch 8 und Versuch 20) oder wässrige Bakterienextrakte (Wassermann und Citron [l. c.]), oder die „subletale“ Dose einer anderen lebenden Bakterienart (Versuch 19).

Auch bei Bails „aggressiven“ Flüssigkeiten fehlt die Spezifität. „Subletale“ Mengen von Typhusbacillen können durch Choleraaggressin, Dysenteriebacillen durch Staphylokokkenaggressin, Staphylokokken durch Dysenterieaggressin, Typhusbacillen durch Coli-Aggressin scheinbar im Sinne Bails virulent gemacht werden [Versuch 15, 16, 17, 18, vergl. auch Salus<sup>3)</sup>]. Das folgt eigentlich von selbst aus den Erörterungen Bails; besteht die Funktion des „Aggressins“ oder der verschiedenen „Aggressine“ allemal nur in der Fernhaltung der entgiftenden Leukocyten (Phagocyten), dann muß sich die infektionsbefördernde Wirkung einer bestimmten „aggressiven“ Flüssigkeit in Kombination mit der subletalen Dosis jedes beliebigen pathogenen Bakteriums äußern. Die Arbeit von Salus (l. c.), welcher aus ähnlichen Versuchen mit Typhus- und

1) Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 39 u. No. 40 p. 11.

2) Ob die Dose für das eigentliche Versuchstier subletal ist, kann man natürlich nicht wissen, wie aus den späteren Darlegungen über das Schwanken der tödlichen Menge lebender Kultur hervorgeht.

3) Arch. f. Hyg. Bd. LV. 1906. Heft 4.



Coli-Bacillen auf biologische Beziehungen zwischen diesen Bacillen schließt, illustriert am besten, zu welchen Resultaten man gelangt, wenn man die Ergebnisse von Experimenten einseitig nur vom „Aggressinstandpunkt“ deutet.

Aus allen diesen Versuchen würde bei objektiver Betrachtung der Resultate (inkl. Kapillarentnahme und Sektionsbefund) doch nur hervorgehen, daß unter Umständen, d. h. bei einem größeren Gehalt an gelösten, toxischen Bakterienprodukten keimfrei gemachte Exsudate in bedeutenden Dosen die Widerstandsfähigkeit des Organismus derart herabsetzen, daß sonst relativ leichte Infektionen schwer oder tödlich verlaufen. Irgendeine Notwendigkeit zur Annahme neuer hypothetischer Eigenschaften oder Stoffe ergibt sich daraus gewiß nicht.

Aber auch der befördernde Einfluß einer Vergiftung der Tiere durch toxische, sterile Exsudate auf eine gleichzeitige Infektion ließe sich experimentell nur dann erweisen, wenn alle Versuchstiere derselben Art von gleichem Gewichte annähernd gleich resistent gegen lebende Infektionserreger wären, oder, um die Sache präziser auszudrücken, wenn der Einfluß der individuellen Widerstandsfähigkeit durch die Giftigkeit der „aggressiven“ Flüssigkeiten weit überwogen würde. Das ist nun durchaus nicht der Fall; deshalb haben auch die „Aggressinversuche“ sowohl als die von Wassermann und Citron, ferner die oben mitgeteilten mit abgetöteten Kulturen und subletalen Toxindosen nur einen sehr geringen Wert.

Es ist schon sehr auffallend, daß so viele mit der von Bail und seinen Mitarbeitern angegebenen Technik durchgeführte Versuche bei den 4 erwähnten Repräsentanten der „Halbparasiten“, namentlich aber bei der Cholera und den Staphylokokken, mißlingen [siehe Versuch 9, 10, 11, 12, 13, 14; vergl. auch Doerr (l. c.) und Kikuchi (l. c.) sowie Hoke<sup>1)</sup>]. Kikuchi begnügt sich festzustellen, daß es eben „vorläufig bis zu einem gewissen Grade Zufall und Glückssache sei, ein hochwirksames Aggressin zu finden. Das ist natürlich keine Erklärung.

Betrachten wir z. B. einmal unseren Versuch 13. Das Kontrolltier stirbt an einer leichten Infektion; ein Aggressin schützt das Tier No. 125; das zweite Aggressin befördert in der Dosis von 0,5 ccm den Infektionsverlauf, bei der doppelten Dosis bleibt das Tier am Leben. Alle Tiere hatten ein Gewicht von genau 170 g. — Das kann die Aggressintheorie nicht erklären.

Wir gewinnen aber sofort das Verständnis für diesen, sowie alle negativ ausgefallenen Versuche mit „aggressiven“ Flüssigkeiten infektionsbefördernde Wirkungen zu erzielen, ferner für alle jene, bei welchen die Kontrolle eingeht, das Aggressintier aber am Leben bleibt, wenn wir die zwei erwähnten Faktoren in ihrer Wechselwirkung berücksichtigen. Der eine ist die offenbar sehr geringe und überdies variable Toxizität der von den Bakterien befreiten Exsudate, der andere die außerordentlich verschiedene Empfänglichkeit derselben Versuchstiere (auch bei völlig gleichem Gewichte) gegen die gleiche Dosis lebender Infektionserreger<sup>2)</sup>.

Für die Dysenteriebacillen wurde dieses Verhalten der Tiere bei intraperitonealer Infektion schon seinerzeit betont. Neue Erfahrungen

1) Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh.

2) Damit sind hier natürlich nur Typhusbacillen, Coli-Bacillen, Dysenteriebacillen, Choleravibrionen und Staphylokokken gemeint.

haben dasselbe mir bestätigt. So blieb, um nur ein Beispiel anzuführen, ein Meerschweinchen (No. 38) nach intraperitonealer Injektion von 2 ganzen Agarkulturen (Kruse), am Leben, ein zweites (No. 57) ging nach 0,2 derselben Kultur unter dem Bilde einer schweren Infektion ein. Ganz ähnlich verhielten sich Staphylokokken und Typhusbacillen (Meerschweinchen 25 1 Typhuskultur  $\phi$ , Meerschweinchen 26 0,03 Typhuskultur  $\dagger$  in 20 h).

Am meisten schwankte aber die zur Tötung ausreichende Dosis bei den Choleravibrien. Ich habe mich entschlossen, die ausgedehnten Versuche, bei einem bestimmten Stamme die Dosis letalis für Meerschweinchen von 200 g<sup>1)</sup>, dann für solche von 160 g zu ermitteln, im Anhange ausführlich wiederzugeben. Beide Tabellen, besonders die erste, zeigen ohne weiteres, daß im Bereiche der höchsten und hohen Dosen immer noch ein gewisser, allerdings geringer Bruchteil der Tiere überlebt. Daran schließt sich eine zweite breite Zone (etwa von 0,2 bis 0,01 Agarkultur reichend), in welcher die Zahl der überlebenden Tiere ungefähr gleich ist der Zahl der verendenden; sodann folgt die dritte bis 0,001, die immer noch vereinzelt wirksame Infektionen aufweist. In den beiden ersten Zonen wechselt der Sektionsbefund und entspricht nach Bail bald einer schweren, bald einer leichteren Infektion; auch das Verhalten der Phagocyten variiert, und hängt von der verwendeten Vibrienmenge nicht ab. Erst bei den kleinsten Dosen treffen wir meist das Bild einer leichten Infektion mit ausgeprägter Phagocytose. Es ist nun klar, daß die „Aggressinversuche“ im mittleren Bereiche sehr wechselnde Resultate ergeben müssen; die natürliche Resistenz überkompensiert den Effekt der schwach giftigen Exsudate. Das eine Mal bleibt die Kontrolle, ein anderes Mal das „Aggressintier“ am Leben, ein drittes Mal zeigen beide das gleiche Verhalten. Ganz ähnlich liegen die Verhältnisse bei den übrigen untersuchten Arten.

Geht man aber mit der Dosis weiter herab bis in die 3. Zone, so wird es (bei der Cholera wenigstens), nahezu unmöglich, durch Zusatz aggressiver Flüssigkeiten einen schwereren Ablauf der Infektion oder gar den Tod herbeizuführen. Das erhellt aus folgenden 2 Versuchen.

Um ein wirksames „Aggressin“ in entsprechenden Mengen zu erhalten, wurden zunächst große Dosen Choleraagarkultur einigen Meerschweinchen intraperitoneal injiziert. Die Exsudate der verendeten Tiere wurden gemengt und je 3 ccm des Gemisches einer zweiten Reihe von Meerschweinchen in die Bauchhöhle gebracht. Von dieser 2. Serie wurden die Exsudate abermals gemischt; erwies sich dann das Exsudatgemenge als hochinfektiös für Kontrollen, so wurde der Rest zentrifugiert, toluolisiert und mit geringen Dosen lebender Kultur nach dem Entfernen des Toluols neuerlich Meerschweinchen i. p. eingespritzt. Dieser Weg wurde eingeschlagen, weil die Erfahrung zeigt, daß die Virulenz der Exsudate im Beginne reiner Exsudatpassagen steigt; man konnte also annehmen, daß solche im Vorversuch tatsächlich hochwirksame Exsudate auch viel „Aggressin“ im Sinne Bails enthalten mußten. Außerdem konnte durch das Mengen der Exsudate der Einfluß eines „zufällig“ nicht aggressinhaltigen ausgeschaltet werden.

1) Mit solchen Tieren hat Bail experimentiert. — Bei ganz jungen Tieren (100 g oder wenig mehr) soll die tödliche Dosis konstanter sein (R. Kraus).

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

## Beiträge zur Kenntnis der anaëroben Bakterien des Menschen.

[Aus dem pathologisch-anatomischen Institute in Wien (Vorstand: Prof. Dr. A. Weichselbaum).]

### IV. Zur Aetiologie der akuten Meningitis.

Von Prof. Dr. A. Ghon, Dr. V. Mucha und Dr. R. Müller.

Mit 2 Tafeln und 5 Textfiguren.

(Fortsetzung.)

#### Kulturelles und biochemisches Verhalten.

Oberflächenwachstum auf Platten mit Traubenzuckeragar war ebenso schwer zu erhalten, wie beim Bacillus im ersten Falle. Gut isolierte Einzelkolonien erhielten wir so gut wie nie. Die Platten zeigten nur im ersten oder in den ersten zwei Strichen ein zartes, schleierartiges Wachstum in Form eines unscharf begrenzten, grau glänzenden Rasens. Mikroskopisch erschien dieser Rasen bei schwacher Vergrößerung gleichmäßig fein gekörnt, manchmal wolkig aussehend und ließ bei stärkerer Vergrößerung an den Randpartieen die ohne bestimmte Anordnung zueinander gelagerten Bacillenformen erkennen.

Schüttelkulturen in Traubenzuckeragar zeigten Kolonien, die je nach der Dichte der Aussaat verschieden groß waren. Sah man die Kolonien gut voneinander isoliert, so erreichten sie die Größe eines Stecknadelkopfes bis Hanfkornes; selten waren sie größer; je kleiner sie waren, um so flacher erschienen sie; mit zunehmender Größe wurden sie mehr rundlich. Sie waren immer scharf begrenzt und hatten einen weißlich-grauen Farbenton.

Niemals, auch nicht bei dichtester Aussaat, konnten wir Gasbildung beobachten.

Stichkulturen in Agar mit 1—2 Proz. Traubenzucker zeigten dann, wenn die Aussaat eine reichliche war, Entwicklung in Form eines grauweißen, gleichmäßig aussehenden Bandes. War die Aussaat eine entsprechend verdünnte, so entstanden isolierte Kolonien, die dort, wo sie dicht standen, punktförmig aussahen (Textfigur 5), dort, wo sie weit voneinander standen, einen Durchmesser bis zu 2,5 mm und darüber erreichen konnten. Entsprechend dem Impfstiche waren diese Kolonien, vom Rande aus betrachtet, bikonvex, von der Fläche aus gesehen, rundlich oder unregelmäßig mit dichterem Zentrum, das bei Lupenbetrachtung bräunlich erschien, und mit grau durchscheinendem, gebuchtetem oder gelapptem peripheren Anteil. Mit der Größe der Kolonien nahm auch die Breite der peripheren Zone zu. Die Kolonien ähnelten jenen des im Falle I beschriebenen Bacillus.

Waren die Kulturen nicht überschichtet, so begann das Wachstum immer erst ungefähr 1,5 cm unterhalb der Oberfläche.



Fig. 5.

Gasbildung war niemals nachweisbar.

Stichkulturen in Agar ohne Traubenzucker zeigten ein ähnliches Verhalten wie die in Agar mit Traubenzucker, nur waren sie etwas schwächer entwickelt.

Zusatz von Rohr- oder Milchzucker (2 Proz.) an Stelle von Traubenzucker zu Agar änderte das Aussehen der Kulturen nicht, nur schien uns in Milchzuckeragar die Entwicklung um ein Geringes weniger üppig zu erfolgen als in Rohr- und Traubenzuckeragar. Gasbildung war auch hier niemals nachweisbar.

Stichkulturen in Blutagar ergaben eine ziemlich gute Entwicklung ohne Gasbildung und ohne Veränderung der Farbe des Nährbodens.

Kulturen in Gelatine mit 1 Proz. Traubenzucker zeigten, wenn sie in den Brutofen (37° C) zur Entwicklung gegeben wurden, oft schon nach 24 Stunden, meist aber nach 48 Stunden zunächst eine zarte Trübung, diffus oder wolkenartig, darauf Flocken, die früher oder später zu Boden sanken, während die Gelatine selbst klar wurde.

Gasbildung erfolgte niemals.

Auch Kulturen, die durch längere Zeit im Brutofen gestanden hatten, erstarrten wieder rasch, wenn sie in kaltes Wasser gestellt wurden. Verflüssigung erfolgte daher nicht.

Das Wachstum bei Zimmertemperatur (21° C) erfolgte in Traubenzuckergelatine — wenn es überhaupt zur Entwicklung kam — nur sehr langsam und kümmerlich. Aehnlich wie beim *Bacillus* im ersten Falle sah man meist erst nach mehreren Wochen oder noch später eine zarte Trübung der Gelatine, wenn Schüttelkulturen angefertigt wurden. Auch in Stichkulturen war kaum mehr zu sehen als Spuren einer Trübung in den tieferen Partien.

Verflüssigung der Gelatine erfolgte auch nach vielen Wochen nicht.

In Gelatine ohne Zuckerzusatz war das Wachstum noch kümmerlicher als in Traubenzuckergelatine.

In Fleischbrühe mit Zusatz von 1—2 Proz. Traubenzucker (laughalsiger Kolben oder Ueberschichtung nach Gefrieren) entstand schon nach 24 Stunden bei 37° C eine nicht sehr üppige, diffuse Trübung ohne Gasbildung. Die Trübung blieb längere Zeit bestehen und erst später bildete sich ein mäßig reichlicher, feinflockiger Bodensatz.

Kulturen in Fleischbrühe ohne Zuckerzusatz zeigten ein ähnliches Verhalten, nur war die Entwicklung eine geringere.

In Peptonwasser erfolgte dürftiges Wachstum ohne Gasbildung.

In eiweißfreien Nährböden nach Ushinsky blieb Wachstum aus, auch dann, wenn diesen Traubenzucker in der Menge von 2 Proz. zugesetzt wurde. Hingegen ließ Zusatz von 2 Proz. Pepton den *Bacillus* zu düftiger Entwicklung kommen.

In erstarrter Hydrokelen- oder Ascitesflüssigkeit entwickelte sich der *Bacillus* gut. Bildeten sich bei entsprechender Aussaat isolierte Kolonien, so erreichten diese Form und Größe eines Hanfkornes, waren gut begrenzt und grau-weißlich. War die Aussaat eine reichliche, so erfolgte Wachstum entlang dem ganzen Impfstiche.

Niemals war Gasbildung und Verflüssigung nachweisbar, auch nicht, wenn die Kulturen viele Monate lang bei 37° C aufbewahrt blieben. Auch war niemals eine Verfärbung des Nährbodens in der Umgebung des Impfstiches oder entfernter davon sichtbar.

In Gehirnnährböden von v. Hibler erfolgte Schwärzung unter dem Agarpfropfe, jedoch keine Verflüssigung und keine Gasbildung.

Auch in Milch war das Wachstum ein gutes, nur erfolgte es langsam. Kulturen in Erlenmeyer-Kolben zeigten unterhalb der Rahmschicht nach mehreren Wochen eine etwa 2 Finger breite Schicht gelblicher, klarer Flüssigkeit und unter dieser ein mächtiges, ziemlich festes Gerinnsel. Später verbreiterte sich die Flüssigkeitsschicht, während das Gerinnsel sich von den Wänden etwas zurückzog, zusammenschumpfte und an seiner Oberfläche einsank. Es erhielt dadurch ein kraterförmiges Aussehen.

Niemals erfolgte Gasbildung und niemals Verflüssigung des Gerinnsels.

Die Kulturen glichen also vollständig jenen des im Falle I beschriebenen Bacillus und nebeneinandergestellt, waren sie voneinander nicht zu unterscheiden.

Auch die Milchkulturen in langhalsigen Kölbchen glichen völlig jenen des Bacillus im Falle I: Bildung eines flaschenförmigen Gerinnsels ohne Gasbildung und ohne Verflüssigung.

Die Beobachtung der Kulturen währte bis zu 6 Monate.

In Traubenzuckeragar mit Zusatz von 0,1 Proz. indigoschwefelsaurem Natron erfolgte noch rasche Entwicklung mit totaler Entfärbung des Nährbodens, ohne Gasbildung. Zusatz von 1,0 Proz. des genannten Präparates hinderte die Entwicklung.

In Zuckeragar mit Zusatz von Neutralrot erfolgte Wachstum nur dann, wenn die Menge des zugesetzten Neutralrotes eine geringe war: Gab man 1—3 Tropfen einer konzentriert wässrigen Lösung zu 15 bis 20 ccm der Nährlösung, so trat keine Entfärbung ein, bei Zusatz von  $\frac{1}{4}$  Tropfen der Lösung erfolgte spärliches Wachstum und langsame Entfärbung. Gasbildung sah man nicht.

In Lackmus-Mannit-Agar konnte man nach einigen Tagen Wachstum nachweisen mit Rotfärbung und teilweiser Entfärbung des Nährbodens, aber ohne Gasbildung.

Der Bacillus säuerte die Zuckerfleischbrühe und ließ in dieser Schwefelwasserstoff in ziemlicher Menge und reichlich Aethylalkohol, Milchsäure und Buttersäure nachweisen, jedoch kein Aceton und keine Essigsäure. Indol war nur ausnahmsweise und dann in kleinen Mengen nachweisbar.

Tabelle.

Fleischbrühe mit 2 Proz. Traubenzucker				
Alter der Kultur:	4 Tage	8 Tage	21 Tage	30 Tage
Reaktion:	sauer	sauer	sauer	sauer
Indol:	negativ	negativ	negativ	negativ
Schwefelwasserstoff:	ziemlich reichlich bei der Destillation	mäßig reichlich	spärlich (bei der Destillation reichlich)	spärlich (bei der Destillation reichlich)
Aceton:	negativ	negativ	negativ	negativ
Aethylalkohol:	reichlich	reichlich	reichlich	reichlich
Essigsäure:	negativ	negativ	negativ	negativ
Milchsäure:	reichlich	reichlich	reichlich	reichlich
Buttersäure:	"	"	sehr reichlich	"

Einen analogen Befund ergab die chemische Untersuchung einer Milchkultur der 41. Generation, die ca. 6 Monate lang bei 37° C gestanden hatte:

Die Milch reagierte sauer, roch nach Rahm, ließ weder Aceton noch Essigsäure nachweisen, dagegen in mäßiger Menge Schwefelwasserstoff, Milchsäure und Aethylalkohol, reichlich Buttersäure und außerdem — abweichend von den bisherigen Befunden — Spuren von Indol.

Das Wachstum des Bacillus erfolgte sowohl bei 37° C als auch bei 21° C. Während aber bei 37° C die Entwicklung im allgemeinen ziemlich rasch erfolgte, konnte sie bei 21° C nur dann nachgewiesen werden, wenn die Kulturen sehr lange Zeit, viele Wochen lang, beobachtet wurden und wenn entsprechend zusagende Nährmedien verwendet worden waren. In Gelatine, auch wenn dieser Traubenzucker zugesetzt war, konnte nur kümmerliche Entwicklung, nicht selten überhaupt keine erzielt werden.

Der Bacillus verhielt sich auch in dieser Beziehung ganz so wie der im ersten Falle beschriebene.

Die Schnelligkeit der Entwicklung war eine verschiedene. Bei 37° C erfolgte Wachstum schon nach 24 Stunden, wenn jeden Tag oder wenigstens jeden zweiten Tag überimpft wurde, sonst kamen die Kulturen erst nach 2—3mal 24 Stunden zum Vorschein, häufig auch noch viel später, nach 5—6 Tagen.

Für das Wachstum des Bacillus war schwach alkalische Reaktion des Nährbodens erforderlich. Bei Zusatz von 0,2 ccm Normalnatronlauge zu lackmusneutralem Traubenzuckeragar war die Entwicklung am kräftigsten, bei Zusatz von 0,4 ccm hatte sie schon bedeutend abgenommen und bei Zusatz von 0,6 ccm war Wachstum überhaupt nur mehr in Spuren nachweisbar. Zusatz von 0,8 ccm Normalnatronlauge verhinderte die Entwicklung bereits vollständig.

Geringer Säuregehalt des Nährbodens beeinträchtigte das Wachstum mehr oder weniger stark: Bei Zusatz von 0,1 ccm Normalmilchsäure zu lackmusneutralem Traubenzucker sah man noch geringes Wachstum, bei Zusatz von 0,2 ccm und mehr Spuren von Entwicklung und die erst nach einigen Tagen.

Die Lebensfähigkeit des Bacillus in Kulturen war verschieden groß. Ähnlich wie beim Bacillus im ersten Falle war die Lebensfähigkeit in Traubenzuckeragar keine sehr große, im allgemeinen eigentlich noch geringer. Dies wahrscheinlich wohl deshalb, weil der Bacillus des vierten Falles noch nicht so lange Zeit fortgezüchtet wurde als der des ersten Falles. Schon Kulturen, die 8 Tage nicht übertragen worden waren, gingen bei Ueberimpfung oft erst sehr spät an. Mehr als 4 bis 6 Wochen erhielten sich die Kulturen bei 37° C kaum lebensfähig. Bessere Resultate erhielten wir, wenn die Kulturen nach ihrer Entwicklung im Brutofen bei Zimmertemperatur (21° C) oder aber im Eiskasten (5° C) aufbewahrt wurden. Auf diese Weise gelang es uns, auch Kulturen, die 6 Monate alt waren, noch mit Erfolg zu übertragen.

Noch besser erhielt sich aber die Lebensfähigkeit in Kulturen, die in erstarrter Hydrokelen- oder Ascitesflüssigkeit angelegt worden waren, und zwar auch dann, wenn die Kulturen bei 37° C stehen blieben. Sie gingen dann immer auch noch nach vielen Monaten an. Der Bacillus verhielt sich also auch darin so wie der im Falle I beschriebene.

### Pathogenes Verhalten.

Ueber das tierpathogene Verhalten des Bacillus konnten wir keine Erfahrungen sammeln. Die Weiterzüchtung des Bacillus in den ersten 20 Generationen bereitete solche Schwierigkeiten, daß es uns unmöglich wurde, die für Tierexperimente nötigen Kulturmengen zu erlangen.

In den späteren Generationen ließ der Bacillus weißen Mäusen, jungen Meerschweinchen (100 g) und jungen Kaninchen (500 g) gegenüber pathogene Wirkungen nicht mehr erkennen.

Wir haben im Vorhergehenden die Eigenschaften der von uns isolierten Bakterien beschrieben und wollen nun der Frage nähertreten, ob die in den einzelnen Fällen gefundenen Bakterien für die nachgewiesenen entzündlichen Veränderungen der inneren Hirnhäute ätiologische Bedeutung besitzen oder nicht.

Die Beantwortung dieser Frage ist in den 4 beschriebenen Fällen keine gleichlautende.

Im Falle I handelte es sich um eine akute eiterige, nicht fötide Leptomeningitis, in deren Exsudat mikroskopisch und kulturell nur eine Bakterienart nachgewiesen werden konnte: Ein kleiner gramnegativer Bacillus, der ein obligates Anaërobion darstellte. Auch die histologisch-bakteriologische Untersuchung ließ in den entzündlich veränderten Gewebepartien — und nur in diesen — ausschließlich kleine Bacillen finden, die ihrem morphologischen und färberischen Verhalten nach vollständig übereinstimmten mit denen, die in den Ausstrichpräparaten gesehen und durch die anaërobe Kultivierung nachgewiesen worden waren. Andere Mikroorganismen fehlten. Die Annahme, daß die nachgewiesenen, morphologisch scheinbar gleichen Bacillen nicht einer, sondern zum mindesten zwei Arten angehörten und daß der Nachweis für die ätiologisch bedeutungsvolle Art mißlungen wäre, erschien uns nicht gerechtfertigt. Dieser Annahme widersprächen vor allem die in unserem Falle verwendeten Kultivierungsmethoden.

Wir glauben uns deshalb zu dem Schlusse berechtigt, daß im Falle I der nachgewiesene anaërobe Bacillus als Ursache der eiterigen Leptomeningitis anzusehen ist. Dagegen könnte die Einwendung erhoben werden, daß für diese Annahme noch die dritte der Kochschen Kardinalforderungen fehle. Diesen Einwand glauben wir damit zurückweisen zu können, daß nach dem heutigen Stand unserer Kenntnisse über die Aetiologie der Erkrankungen die Erfüllung dieser dritten Forderung von Koch nicht unter allen Umständen notwendig sei. Der von uns isolierte Bacillus erwies sich in den Tierexperimenten als schwach pathogen. Diese geringe Pathogenität erlaubte uns aber deshalb keine Schlüsse, weil die Experimente erst mit späteren Generationen ausgeführt werden konnten. Die Fortzüchtung des Bacillus hatte in den ersten Generationen Schwierigkeiten bereitet, überdies war das Wachstum des Bacillus ein wenig üppiges. Wir hatten also von Hause aus wenig oder so gut wie gar keine Aussichten, mit Erfolg den Versuch zu unternehmen, bei unseren Laboratoriumstieren durch subdurale oder spinale Infektion Meningitis zu erzeugen. Und dieser Grund bestimmte uns vor allem, von den erwähnten Tierexperimenten abzusehen.

Die gleichen Ueberlegungen kommen auch für den Fall IV in Betracht, bei dem die Fortzüchtung der isolierten Bacillen durch längere Zeit noch größere Schwierigkeiten bereitete, als im Falle I.

Im Falle II fehlt uns in der Beweiskette, daß nur der isolierte Bacillus als Ursache der Meningitis anzusehen sei, ein Glied. Die entzündlichen Veränderungen hatten in diesem Falle einen fötiden Charakter, denn das Exsudat zeigte üblen Geruch. In den Kulturen konnten wir nur eine anaërobe Bacillenart isolieren, die den gleichen Geruch gab und ihrem Aussehen nach übereinstimmte mit jenen Bacillenformen, die wir in den Ausstrichpräparaten vom Exsudate sehen konnten. Infolge eines Versehens wurden Gehirnstücke für die histologisch-bakteriologische Untersuchung nicht konserviert. Wir können deshalb in diesem Falle über das Verhältnis des nachgewiesenen Bacillus zu den Gewebsveränderungen nichts aussagen. Die Annahme, daß demnach auch im Falle II der mikroskopisch und kulturell allein nachgewiesene Bacillus die Ursache der Leptomeningitis war, kann nur mit der dabei nötigen Vorsicht gemacht werden, obwohl wir nicht zweifeln, daß auch die histologisch-bakteriologische Untersuchung kein anderes Resultat ergeben hätte. Wir halten aber den Nachweis der als Erreger einer Affektion anzusprechenden Bakterien im Gewebe in allen Fällen für wichtig.

Im Falle III endlich ergab die Untersuchung, daß es sich entgegen den 3 anderen Fällen um eine Mischinfektion handelte. Das Exsudat der Leptomeningitis war auch hier ein fötid-eiteriges und ließ sowohl in den Ausstrichpräparaten als auch durch die Kultivierung mit Sicherheit zwei Bakterienformen nachweisen: In reichlicher Menge eine gram-negative Art, die als echter *Vibrio* anzusprechen war, und eine gram-positive Kokkenart aus der Gattung *Streptococcus*. Die gleichen Formen fanden sich auch in den Schnittpräparaten und zwar auch hier in dem angeführten Mengenverhältnis. Unsicher blieb es nur, ob außer den beiden genannten Arten noch eine dritte in Frage kam, — trotz vielen Bemühens, Klarheit darüber zu erlangen. Man fand nämlich in den Ausstrichpräparaten neben den grampositiven Kokkenformen noch Gebilde, die kurzen Bacillen täuschend ähnlich sahen, einen sicheren Entscheid aber deshalb nicht ermöglichten, weil auch die Kokkenformen häufig von ausgesprochen länglicher Form waren. Ähnliches sahen wir auch in den Schnittpräparaten, doch weniger hervortretend. Die Kulturen ergaben nur zwei Formen. Sollte es sich in diesem Falle wirklich noch um eine dritte Art gehandelt haben, so war diese zweifelsohne der Zahl nach die wenigst vertretene. Für uns erschien diese Frage aber deshalb von geringerer Bedeutung, weil ja ohnedies eine Mischinfektion vorlag, es sich also nur darum handeln konnte, ob diese Mischinfektion durch zwei oder durch drei Arten bedingt war. Daß den entzündlichen Veränderungen wirklich eine Mischinfektion zu Grunde lag, dafür sprachen auch die histologischen Bilder. Welche Bedeutung bei dieser Infektion aber den einzelnen Arten der nachgewiesenen Bakterien zukam, das zu entscheiden, scheint uns nicht sicher möglich. Als ziemlich feststehend möchten wir die Ansicht betrachten, daß der fötide Charakter des Prozesses durch den *Vibrio* bedingt war, da dieser auch in seinen Reinkulturen die gleichen Zersetzungsprodukte erzeugte. Die Tatsache, daß gerade Vibrionen bei solchen Prozessen eine Rolle spielen, ist keine neue und gewinnt immer mehr Anerkennung.

Wenn wir demnach unsere Auseinandersetzungen über die Frage der ätiologischen Bedeutung der in den 4 Fällen isolierten Bakterien zusammenfassen, so glauben wir sagen zu dürfen, daß in den Fällen I und IV die gefundenen anaëroben Bacillen die Erreger der eiterigen Hirnhautentzündung waren, daß im Falle II



der isolierte anaërobe Bacillus mit größter Wahrscheinlichkeit als Erreger der fötid-eiterigen Leptomeningitis anzusehen war und daß endlich im Falle III der isolierte anaërobe Vibrio zum mindesten als Ursache des fötiden Charakters der entzündlichen Hirnhautveränderungen betrachtet werden konnte.

Den Ausgangspunkt für die Hirnhautentzündung bildete in allen 4 Fällen eine chronische Entzündung des Gehörorganes. Der Zusammenhang dieser Prozesse ist eine allgemein anerkannte und bewiesene Tatsache. Auch weiß man, daß gerade im Gefolge chronischer Ohreiterungen nicht bloß eiterige, sondern häufig auch fötide Entzündungsprozesse des Gehirns und seiner Häute entstehen können.

Während aber den gewöhnlichen eiterigen Prozessen in ätiologischer Beziehung von vielen Seiten ein gewisses Interesse entgegengebracht wurde, vernachlässigte man im allgemeinen die genauere Untersuchung der fötiden Prozesse. Die Ursache dafür war in erster Linie die Erkenntnis, daß die Isolierung und damit die Bestimmung des häufig nachzuweisenden Bakteriengemenges mehr oder weniger Schwierigkeiten bereitete. Dazu unterschätzte man zweifelsohne die Bedeutung gerade dieser Formen und glaubte sich damit abfinden zu können, ihnen eine untergeordnete Rolle beizumessen. Mit Unrecht.

Das Verdienst, gerade die Bedeutung anaërober Bakterien für Infektionen otitischen Ursprungs erkannt zu haben, gebührt unstreitig E. Rist, der in der früher erwähnten Arbeit seine Untersuchungen in dieser Frage niedergelegt hat.

Die Schlüsse, zu denen E. Rist in der genannten Arbeit kommt, sind im allgemeinen folgende:

Die akuten Mittelohrentzündungen können durch pathogene aërobe Bakterien erzeugt sein (*Streptococcus* und *Pneumococcus*), häufig finden sich diese sogar ausschließlich im Exsudat, besonders zu Beginn der Prozesse. Doch findet man auch in akuten Fällen, noch vor der Perforation des Trommelfelles, neben den genannten aëroben Formen andere Bakterien, besonders Bacillen.

Das Exsudat der chronischen Otorrhöe, das durch seinen Geruch charakterisiert ist, enthält hingegen immer verschiedene Mikroben. Die davon angelegten aëroben Kulturen zeigen dabei immer nur eine kleine Zahl von Bakterienarten, entgegen dem Befunde in den Deckglaspräparaten. Diesen scheinbaren Widerspruch klären die anaëroben Kulturen auf, da man durch sie die Mehrzahl der aërob nicht gewachsenen Mikroorganismen nachweisen kann.

Die akuten Entzündungen des Warzenfortsatzes, die im Anschlusse an akute Otitiden entstehen, können gleichfalls durch den *Streptococcus* und *Pneumococcus* erzeugt sein. In diesem Falle ist das Exsudat nicht fötid. Häufig aber entstehen Mastoiditiden nach fötiden chronischen Otorrhöen und dann findet man mikroskopisch immer eine große Zahl verschiedener Bakterienformen, die ihrer Mehrzahl nach streng anaëroben Arten angehören.

(Forts. folgt.)

*Nachdruck verboten.***Beitrag zur Kenntnis des Streptococcus mucosus capsulatus.**[Aus dem pathologischen Laboratorium des Mt. Sinai-Hospitals,  
New York.]

Von Dr. Leo Buerger.

(Schluß.)

**Diagnose.** Macht man sich zur Regel, alle Stämme von Streptokokken, Pneumokokken und S. m. c. auf Serumagar, Serum-Glukoseagar und Blutagar zu züchten, so wird man außer den bei den übrigen Nährböden erscheinenden gewöhnlichen Merkmalen dieser Organismen ohne Schwierigkeit auch die differenten Erscheinungen des beschriebenen Streptococcus zu Gesicht bekommen. Derartige Kulturböden sind für die rasche und präzise Differentialdiagnose unentbehrlich.

Der S. m. c. muß genau von den folgenden Kokken unterschieden werden:

- 1) gewissen Streptokokken,
- 2) gewöhnlichen Pneumokokken,
- 3) großen, schleimigen Pneumokokken.

1) Es gibt Streptokokken mit reichlichem wässerigen Wachstum auf Serumagar, Glukose-Serumagar und Blutagar, welche nicht in die Klasse des S. m. c. gehören. Ich fand sie im Blute bei ulceröser Endocarditis, sowie bei verschiedenen lokalinfektiösen Prozessen. Die Kolonien sind dem S. m. c. sehr ähnlich. Morphologisch aber sind sie gänzlich verschieden. Gefärbt nach Verfassers Methode, zeigen sie in der Regel den schmalen oder „Streptokokkentypus“ der Kapsel. Auf Glukose-Serum-Agar geben sie stets einen Niederschlag, was unseren eigenen Stämmen des S. m. c. nicht zukommt<sup>1)</sup>. Auf Blut- oder Serumblutagar können sie nach etwa 24 Stunden den S. m. c. vortäuschen. Später ist deutliche Hämolyse vorhanden, während für den S. m. c. die grüne Farbe und das Fehlen von deutlicher Hämolyse charakteristisch ist<sup>2)</sup>. Solche Streptokokken bilden auch das typische, schleimige Exsudat im Tierkörper nicht; ebensowenig zeigen sie die Morphologie des S. m. c. in Geweben oder im Blute. Häufig verlieren sie ihr wässeriges Aussehen nach wenigen Generationen.

2) Die Unterscheidung des S. m. c. vom gewöhnlichen Pneumococcus ist bereits in früheren Abhandlungen geschildert worden (1, 2) und braucht nicht mehr ausführlich behandelt zu werden. Jeder Organismus hat seine eigentümliche Kapsel; dem Pneumococcus gehört die Lanzettform, dem S. m. c. die Kugel- oder Semmelform an. Pseudolanzettformen des S. m. c. müssen sorgfältig unterschieden werden. Sie sind oft mit typischen Semmelformen untermischt. Morphologisch kann der Streptococcus in günstigen Nährböden im Blute und in Exsudaten infizierter Tiere mit dem Pneumococcus kaum verwechselt werden.

3) Doch gibt es Pneumokokken, die auf günstigen Nährböden dem S. m. c. sehr ähnlich sehen. 4 derartige Stämme sind von mir be-

1) Weitere Beobachtungen über Niederschlag dieses Nährbodens durch den Organismus findet man im Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XXXIX. p. 347.

2) Ich verdanke diesen Punkt Herrn Dr. Libman. Meine eigenen Stämme sind von ihm auf den Blutmedien geprüft worden.

obachtet worden, nämlich: 2 aus Mundsekreten gesunder Personen (an verschiedenen Tagen isoliert); einer aus dem Munde einer älteren pneumoniekranke Frau, und einer aus einem frischen Empyemexsudat. Die Kulturen dieser 4 sahen auf günstigen Nährböden genau so wie *S. m. c.* aus; sie zeigten dasselbe üppige Wachstum, dieselbe wässerige, schleimige Beschaffenheit. Morphologisch aber unterscheiden sie sich durch die Lanzettform und dadurch, daß die Ketten von großen, diffus gefärbten Kapseln umgeben sind, welche, wie beim typischen *Pneumococcus*, Einschnürungen zwischen den Paaren aufweisen. Die Diplokokken sind meist größer als gewöhnliche Pneumokokken, infolge der Größe ihrer Kapseln. Ferner zeigt sich eine verminderte Wucherung nach wenigen Ueberimpfungen. Alle 4 Stämme waren für weiße Mäuse virulent. Exsudat und Blut der Versuchstiere zeigten nur Diplokokken, entweder den „großen, schleimigen Typus“ oder die Normalform. Die Virulenz nahm rasch nach einigen Generationen ab. Die Morphologie und der labile Charakter erweisen diese Organismen als echte, wenn auch atypische Pneumokokken.

Die Stämme aus dem Munde des Pneumoniealles waren übrigens mit vielen Pneumokokken der gewöhnlichen Art untermischt, wenn auch der „schleimige Typus“ in überwiegender Mehrzahl vorhanden war. Daneben wurde auch der *S. m. c.* nach einigen Proben und längerem Suchen in demselben Fall isoliert.

**Bemerkungen über die Literatur.** Aus den Angaben der Literatur läßt sich nur schwer ein Anhalt finden, welche von den beschriebenen Organismen zu den *S. m. c.* zu zählen sind. Einerseits sind die Berichte vielfach im ganzen zu kurz gehalten, andererseits ist die Beschreibung der speziellen kulturellen und morphologischen Eigenschaften häufig zu unbestimmt, um mit Sicherheit zu entscheiden, ob eine Sonderklasse vorliegt.

Bessers Organismus ist dem *S. m. c.* darin ähnlich, daß er eine Hülle besitzt und dauernd virulent bleibt. Schleimige Kolonien finden aber keine Erwähnung.

Der *S. der Cerebrospinalmeningitis* von Bonome steht unserem Typus näher. Aber die schnell abnehmende Lebensfähigkeit, sowie Wachstumsunfähigkeit auf Blutserum stimmen mit unseren Erfahrungen nicht überein.

Die Streptokokken von Liesenberg und Zopf, Kurth und Seitz, obwohl dem *S. m. c.* ähnlich, lassen sich nicht mit Sicherheit den letzteren beizählen.

Binaghi unterscheidet seinen *Coccus* nicht genügend vom *Pneumococcus*. Die Beschaffenheit des Exsudats bei infizierten Meerschweinchen und einige andere Punkte lassen es jedoch möglich erscheinen, daß sein *Streptococcus* dem *S. m. c.* angehört.

Der „*Streptococcus aureolé*“ (Le Roy des Barres und Weinberg), sowie der *Enterococcus*“ (Lewkowicz) haben mit dem *S. m. c.* viele Züge gemeinsam. Dagegen scheint *Hlavas Coccus* demjenigen von Liesenberg und Zopf näherzukommen. Das Fehlen von Kapseln auf nichtzuckerhaltigen Nährböden, sowie das Fehlen von Virulenz für Mäuse oder Meerschweinchen sprechen für einen anderen Typus.

Der *S. mucosus* von Schottmüller, Howard und Perkins, und Neumann scheint mit dem unserigen in dieselbe Gruppe zu gehören. Howard und Perkins konnten, soweit Nährböden in Betracht kommen, Kapseln nur bei auf Milch gezüchteten Organismen

färben. Es war aber in allen Nährböden eine Zone vorhanden, die auf die Existenz einer Hülle schließen ließ.

Ob die Pseudopneumokokken *Richardsons* und die atypischen Kokken *Longcopes* hierher oder zu den Pneumokokken gehören, ist nicht leicht aus ihren Abhandlungen zu entnehmen. *Richardson* will seine Organismen von Pneumokokken trennen, da sie stark wucherten, ein makroskopisch charakteristisches Bild darboten, einen schleimartigen Rasen bildeten und dauernde Kapseln auf Nährböden zeigten. Es ist aber von *Hiss* sowie vom Verfasser gezeigt worden, daß die Kapseln der Pneumokokken in Nährböden vorhanden sind und durch viele Generationen bleiben können. Auch das schleimige Oberflächenwachstum ist den großen schleimigen Pneumokokken eigentümlich.

*Longcope* will den *S. mucosus* den Pneumokokken beizählen. Nach ihm können echte Pneumokokken in späteren Generationen die Züge des *S. mucosus* annehmen. Nun habe ich aber meine Organismen monatelang beobachtet, ohne einen solchen Uebergang zu sehen. Man muß daran denken, daß der *S. m. c.* und der *Pneumococcus* zusammen vorkommen (wie z. B. im menschlichen Munde) und somit zu Irrtümern Anlaß geben können, namentlich bei Krankheiten der Atmungsorgane. Durch sorgfältiges Plattenverfahren, am besten auf der Oberfläche von Glukose-Serumagar<sup>1)</sup>, sowie durch Kontrolle mit der Kapselfärbung lassen sich die zwei Organismen leicht auseinanderhalten. Nur dann dürfen wir sicher sein, daß wir es mit einem Typus zu tun haben<sup>2)</sup>.

Die wichtigeren Ergebnisse der Literaturübersicht zusammenfassend, möchte ich folgendes hervorheben: Gewisse Berichte, wie diejenigen von *Howard* und *Perkins*, *Schottmüller* und *Neumann* schildern ohne Zweifel Organismen, die mit den unserigen identisch sind.

2) Andere wiederum dürfen den Pneumokokken oder dem großen schleimigen Typus derselben beigezählt werden.

3) Es gibt stark wuchernde Streptokokken, die unserem *S. m. c.* nicht entsprechen, indem sie auf zuckerfreien Medien keine typischen Formen hervorbringen.

Der *S. m. c.* in pathologischen Prozessen. Die ätiologische Bedeutung des Organismus für zahlreiche pathologische Prozesse ist bis vor kurzem nicht beachtet worden. *Schottmüller* züchtete seine Stämme aus parametritischem Absceß, Peritonitis, Meningitis bei Otitis media (3 Fälle), Sepsis und akuter krupöser Pneumonie (6 Fälle). *Heims Streptococcus* wurde aus dem Eiter bei Otitis media in Reinkultur isoliert. *Howard* und *Perkins* hatten es mit Peritonitis nach Ovarialabsceß zu tun.

Was meine eigene Reihe betrifft, so muß No. I als Erreger der akuten Meningitis angesehen werden.

Ein Mann von 62 Jahren (Sommer von 1904) Mt. Sinai-Hospital, Dienst des Herrn Dr. H. W. Berg, erkrankte 10 Tage vor seiner Aufnahme mit Schmerzen im rechten

1) *S. Literatur* No. 2. Technik des Plattenverfahrens für Pneumokokken. p. 500 u. 501.

2) In der neuesten Zeit (*Journ. of exper. Med.* Vol. VII. No. 5) haben sich folgende Autoren über den *S. m. c.* ausgesprochen: *Park* und *Williams*, *Collins*, *Longcope*, *Fox*, *Duval* und *Lewis* und *Hiss*. Da meine Arbeit bei Erscheinen dieser Mitteilungen bereits abgeschlossen war, konnte ich auf dieselben nicht näher eingehen.

Ohr. Nach 5 Stunden Schüttelfröste und Fieber, nachts Ausfluß aus dem Ohr. Seitdem Fieber, Fröste und Erbrechen. Bei der Aufnahme typische Symptome einer Meningitis, doch kein Ohrausfluß. Es wurden keine Kulturen aus dem Ohre entnommen<sup>1)</sup>. Die Cerebrospinalflüssigkeit enthielt den S. m. c. in Reinkultur. Sektion wurde verweigert.

Höchst wahrscheinlich hatten wir es in diesem Falle mit einer akuten Mittelohrinfektion zu tun, die zu Meningitis führte.

Schottmüller erwähnt 3 Meningitisfälle im Anschluß an Otitis durch denselben Erreger. Wenn man das häufige Vorkommen dieser Organismen im Munde und im Rachennasenraum berücksichtigt, so ist ihre Anwesenheit bei infektiösen Ohrprozessen begreiflich. Unter 145 Fällen, deren Mundsekret auf Pneumokokken untersucht worden war, fand sich der S. m. c. 8mal [5,5 Proz.<sup>2)</sup>]. Neumann hat seine Gegenwart auch im Nasopharynx nachgewiesen. Eine genauere Differenzierung des Pneumococcus und des S. m. c. wird uns vielleicht zeigen, daß letzterer nicht selten bei Mittelohrentzündung und in einigen anderen Infektionszuständen ätiologische Bedeutung hat.

Auch bei der akuten krupösen Pneumonie spielt der S. m. c. eine Rolle, und es ist darum für die Zukunft vielleicht nicht unwichtig, seine vom schleimartigen Pneumococcus differenten Eigenschaften zu beachten. Schottmüller hat neuerdings den S. m. c. bei Pneumonie gefunden. Ob die Organismen von Richardson hierher oder zum großen Typus der Pneumokokken gehören, wage ich nicht zu sagen. In meinem eigenen Pneumoniefalle war der große schleimartige Typus im Sputum überwiegend<sup>3)</sup>.

Zum Schlusse möchte ich nun noch besonders auf folgendes als Ergebnis der vorstehenden Arbeit hinweisen:

1) Es gibt eine Gruppe eingekapselter Streptokokken, deren morphologische und kulturelle Eigentümlichkeiten die Aufstellung einer besonderen Klasse rechtfertigen.

2) Die beobachteten Streptokokken waren bezüglich der Stabilität ihrer biologischen Eigenschaften konform. Alle Stämme behielten den beschriebenen festen Typus bei.

3) Sie müssen von gewissen Pneumokokken, nämlich von dem „großen schleimartigen Typus“, unterschieden werden.

4) Es ist wünschenswert, daß künftige Arbeiten uns noch weitere und genauere Mittel an die Hand geben zur exakten Differenzierung des beschriebenen Streptococcus von den übrigen Streptokokken schleimartigen Charakters, um alsdann den bereits mitgeteilten, in ihrer Stellung noch unklaren Arten ihren Platz anweisen zu können.

#### Literatur.

- 1) Buerger, Eine Methode zur Kapselfärbung der Bakterien etc. (Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XXXIX. Heft 2, 3.)
- 2) —, Studies of the Pneumococcus and allied organisms etc. (Journ. of exper. Med. Vol. VII. No. 5.)
- 3) Besser, Ueber die Bakterien der normalen Luftwege. (Beitr. z. pathol. Anat. u. allg. Path. Bd. VI. p. 357.)

1) Ich bin den Herren Dr. Alfred Meyer und Dr. H. W. Berg für diesen Auszug aus der Krankengeschichte zu Dank verpflichtet.

2) Im Munde eines Gesunden fand sich dieser Coccus zu wiederholten Malen in einem Zeitraum von 2 Wochen. Zu gleicher Zeit fand sich auch der Pneumococcus.

3) Neuerdings wurde auch von Libman in hiesigen Laboratorium der S. m. c. in einem weiteren Fall von Meningitis, bei einer Mastoiditis und im Sputum einiger Pneumoniefälle gefunden.

- 4) Bonome, Zur Aetiologie der Meningitis cerebro-spinalis epid. (Centralbl. f. Bakt. Bd. VIII. p. 377.)
- 5) Liesenberg u. Zopf, Ueber den sogenannten Froschlaichpilz (Leukonostoc etc.) (Beitr. z. Phys. u. Morph. nied. Organ. Heft 1. 1892.)
- 6) Kurth, Bakteriologische Untersuchungen bei Maul- und Klauenseuche. (Arb. aus dem kaiserl. Gesundheitsamt. B. VIII. p. 439.)
- 7) Sanfelice, Ueber einen Befund an von Maul- und Klauenseuche befallenen Tieren. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XVI. p. 896.)
- 8) Behla, Der Streptococcus involutus etc. (Berl. tierärztl. Wochenschr. 1896. No. 45.)
- 9) Seitz, Streptococcus aggregatus. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XX. p. 854.)
- 10) Binaghi, Ueber einen Streptococcus capsulatus. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXII. p. 273.)
- 11) Le Roy des Barres et Weinberg, Streptococcus aiguë etc. (Arch. de méd. expér. et d'Anat. pathol. T. XI. 1899.)
- 12) Tavel et Krumbein, Annales suisse des sciences méd. 1894/95. p. 577. Cit. v. Le Roy des Barres etc.
- 13) Bordet, Contribution à l'étude etc. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1897. p. 184.)
- 14) Howard und Perkins, Streptococcus mucosus etc. (The Journ. of med. Research. Vol. VI. 1901.)
- 15) Lewkowicz, Ueber den Enterococcus als Ruhrerreger. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXIX. p. 635.)
- 16) Richardson, Pseudopneumococci in lobar pneumonia. (The Journ. of the Bost. Soc. of med. Sc. Vol. V. 1900—1901.)
- 17) Atkinson, The Journ. of the Bost. soc. of med. sc. Vol. I. 1897.)
- 18) Loncope, Streptococcus mucosus and its relations etc. (Univ. of Penn. med. Bulletin. April 1902.)
- 19) Hlava, Leukonostoc hominis und seine Rolle etc. (Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XXXII. p. 263.)
- 20) Schottmüller, Die Artuntersuchung der für den Menschen pathogenen Streptokokken etc. (Münch. med. Wochenschr. p. 849 u. p. 909.)
- 21) — —, Zur Aetiologie der Pneumonia crouposa. (Münch. med. Wochenschr. No. 30. p. 1425.)
- 22) Neumann, Kapseltragende pathogene Streptokokken im Rachennasenraum. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXVII. p. 481.)
- 23) Heim, Beobachtungen am Streptococcus mucosus. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infekt. Bd. L. p. 139.)
- 24) Buerger, Some observations on the effect of symbiosis on the growth of the S. m. c. (Proc. New York path. Soc. Vol. V. Heft 1 u. 2. 1905.)
- 25) Hiss, Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXI. p. 302.

Nachdruck verboten.

## Zur Aetiologie der Geflügeldiphtherie.

[Aus dem Hygienischen Institut zu Kiel (Prof. B. Fischer).]

Von Dr. **Reiner Müller**, 1. Assistent.

(Fortsetzung.)

**Kulturen:** Aussaaten des Herzblutes in Agar und auf Blutagarplatten zeigten kein Wachstum. Aussaaten von Kehlkopfbelag, Gaumenbelag und Konjunktivaleiter wurden auf die Oberfläche von Agar- und Blutagarplatten gemacht. Die Beläge wurden zuvor zwischen abgeflammten Objektträgern verrieben (Herstellung des Blutagars s. unten). Die Oberflächenaussaaten wurden, vergleichbar den Typhusstuhlaussaaten nach v. Drigalski-Conradi, mit einer an der Spitze stumpfwinkelig umgeknickten Platinnadel so gemacht, daß beim Ausstreichen des Materials schließlich Einzelkolonien entstanden. — Die Agarplatten zeigten durchweg üppig wachsende Kolonien, besonders gramnegativer beweglicher Stäbchen verschiedener Art, teils mehr der Coli-Gruppe nahestehend,

teils wesentlich kleiner („Roupbacillus“?). Auch auf den Blutagarplatten wuchsen solch verschiedenartige gramnegative Stäbchen. Hier fand ich auch bei den Aussaaten des einen Gaumenbelags die großen Diphtheriebacillen-ähnlichen Stäbchen des direkten Ausstriches wieder. Sie wuchsen in ziemlich großen, gelben, trockenen Kolonien, ganz anders wie echte Diphtheriebacillen, ließen sich auf Agar weiterzüchten, auch zeigten sie Polkörner- und „Zebrafärbung“. — Die (anaeroben) Nekrosebacillen fand ich auch an den Stellen der dichtesten Aussaat, jedoch gelang mir bei weiterer Uebertragung auf Blutagar keine Darstellung von Einzelkolonien, die Symbiose (vergl. auch später) hatte denselben also wohl ein mäßiges Vegetieren trotz des Luftsauerstoffs gestattet.

Mehr als diese verschiedenen Keimarten erregte mein Interesse auf der 48-stündigen Blutplatte eine Kolonienart dadurch, daß sie trotz des geringen Durchmessers von  $\frac{1}{2}$ —1 mm eine verhältnismäßig starke Hofbildung durch Blutfarbstoffvernichtung zeigte. Im durchfallenden Lichte erkannte man sie als kleine Punkte in der Mitte der Höfe, selbst oft noch da, wo sie von den üppig wuchernden anderen Kolonien überwachsen waren. Präparate zeigten unbewegliche, grampositive Stäbchen, zum Teil mit V-Formen und in Parallellagerung. Hierin den Diphtheriebacillen ähnlich, unterscheiden sie sich von ihnen schon durch ihre Kleinheit. Ich fand diese Kolonien in größerer Zahl in allen Aussaaten sämtlicher diphtherisch erkrankten Teile beider Tiere. Da mir nun die Literatur keine befriedigenden Angaben über die Aetiologie der Hühnerdiphtherie bot, das gefundene Stäbchen aber den zahlreichen früheren Untersuchern sehr wohl entgangen sein konnte, weil es nicht auf den gewöhnlichen Nährböden wächst, so schienen mir genauere Untersuchungen angebracht.

Dazu benötigte ich zunächst weiteren Untersuchungsmaterials. Bei der Erlangung desselben erfreute ich mich der gütigen Unterstützung des Direktors des hiesigen Instituts für Tierseuchen, Herrn Dr. Bugge; des Assistenten der hiesigen medizinischen Klinik Herrn Dr. Külbs und des Vorsitzenden des Geflügelzuchtvereins zu Linnich, Herrn M. Müller. Ferner erhielt ich durch Zeitungsanzeigen auch eine Anzahl anders erkrankter oder verendeter Tiere, welche Kontrolluntersuchungen ermöglichten.

Zunächst bekam ich am 25. Nov. 1905 ein totes Huhn von demselben Geflügelhofe. Hier fand ich keine Kehlkopfkrankung, sonst stimmte der Befund nahezu völlig überein mit dem der beiden ersten. Auch hier Züchtung des Hühnerdiphtheriebacillus aus allen erkrankten Teilen. Im Augeneiter fanden sich hier nur ganz vereinzelte Nekrosebacillen.

Am 4. März 1906 erhielt ich von einem anderen Geflügelhofe, der mit dem ersten angeblich keine Beziehungen hatte, ein 4. totes und ein 5. krankes Huhn. Die Seuche brach nach Angabe des Besitzers in den naßkalten Wintertagen aus und hatte unter 50 Tieren fast alle im ersten Jahre befindlichen befallen, während von den älteren nur wenige erkrankten. Die meisten der befallenen Tiere, etwa 20 Stück, waren der Seuche bereits erlegen. — Bei dem toten Huhn waren die Beläge im Maule nicht so ausgedehnt, wie bei den 3 ersten Tieren, sondern bildeten bis zu 5 mm große „Inseln“. Der Kehlkopf war frei. Dagegen beide Augen durch Vereiterung erblindet; und die dadurch hervorgerufene Unmöglichkeit, das Futter zu finden, hatte vielleicht den Hungertod hervorgerufen. Herzblut keimfrei; in allen diphtherisch erkrankten Teilen

der Hühnerdiphtheriebacillus in größerer Anzahl. — Bei dem lebenden Huhn dieser zweiten Epizootie im Maule nur einige insuläre Beläge, wenige Millimeter groß, besonders am Rachen; beiderseits starke Konjunktivitis; besonders aus dem linken Auge träufelt beständig klares Sekret; das Tier verbreitet denselben süßlich widerlichen Geruch, den ich auch bei den 4 toten wahrgenommen hatte. 3 ccm Flügelvenenblut keimfrei. Aus den Belägen im Maule und besonders aus dem klaren Konjunktivalsekret wachsen zahlreiche Hühnerdiphtheriekolonien. Dieses Tier wird im Institut weiter gepflegt; nach einigen Tagen sind die Beläge im Maule geschwunden; das Tränenträufeln besteht jedoch nach 2 Monaten noch fort und setzt mich in den Stand, jederzeit frische Kulturen des Erregers zu züchten.

Am 28. März 1906 erhielt ich ein 6. krankes Huhn von einem dritten Geflügelzüchter. Das Tier war angeblich schon mehrere Wochen krank. Augen, Nase, Maul, zeigten keine Veränderungen (mehr?), nur in der Umgebung des Kehlkopfes dicke gelbe Beläge. Ein recht lose sitzender, mit der Pinzette herausgeholter Belagfetzen roch ebenso widerlich süßlich, wie die Beläge der früheren Tiere. In der Aussaat auf Blutagar fand ich hier keine Hühnerdiphtheriebacillen, wie ich annehme deshalb, weil der betreffende Blutagar zu viel Blut enthielt (1:3), wodurch die Hofbildung schwer sichtbar wird. Das Tier starb 6 Tage später. Aussaat auf Blutagar (1:10) ergab sofort zahlreiche Hühnerdiphtheriebacillenkolonien. Die Beläge saßen ausschließlich in der Umgebung des Kehlkopfes oberhalb der Stimmritze. Innere Organe keimfrei.

#### Untersuchung nicht diphtheriekranker Tiere.

Ich untersuchte mittels Blutagar die Bakterienflora der Rachen- und Konjunktivalschleimhaut von je 4 gesunden Hühnern und Tauben; ferner von 2 Hühnern und 3 Tauben, die an anderen Krankheiten eingegangen waren und keine Beläge der Schleimhäute zeigten. Ich fand keine den oben geschilderten ähnliche Kolonien. Neben Staphylo- und Streptokokken, coliatigen Stäbchen vermißte ich fast nie Bacillen, die der Diphtheriegruppe zuzurechnen sind. Dreimal fand ich solche, die Diphtheriebacillen an Gestalt sehr nahe kamen, ihn an Länge und Dicke vielleicht noch etwas übertrafen; unter sich waren sie nicht gleich; eine Art wuchs in trockenen gelben Kolonien und schien identisch zu sein mit den in Belägen gefundenen derartigen Stäbchen (s. oben); eine andere wuchs als kleine durchscheinende Tröpfchen auf Blutagar, auf schrägem Agar überhaupt nicht. Auf Blutagar zeigte keine der gefundenen Arten Hofbildung. Auf eine genauere Beschreibung kann ich an dieser Stelle nicht eingehen.

Bei einer sonst gesunden Langshanhenne mit einseitiger citriger Panophthalmie fand ich keine Hühnerdiphtheriebacillen, sondern vorwiegend Streptokokken im Eiter. Auf dem betreffenden Geflügelhof herrschte keine Diphtherie.

Eine tote Langshan-Henne zeigte keine Beläge des Maules, die Augen waren völlig intakt; im Rachen zähe glasige Schleimmassen, keine diphtherischen Beläge. Das gut genährte Tier war erstickt durch eine mehr als bohngroße Exsudatmasse, welche die Stimmritze von unten her völlig verschloß. Dieser Pfropf bot nach Aussehen und Konsistenz eine gewisse Ähnlichkeit mit den Belägen bei Hühnerdiphtherie. Trotz genauer Untersuchung gelang es nicht, Hühnerdiphtheriebacillen zu isolieren. Auf den Blutplatten erregte jedoch eine bei allen angeführten



Aussaaten nicht gesehene Kolonienart meine Aufmerksamkeit, die, größer als die des Hühnerdiphtheriebacillus, schon nach 12—24 Stunden schöne Hofbildung zeigte. Es lagen gramnegative unbewegliche Stäbchen vor, die etwas an den Rotzbacillus erinnerten. Dieses Stäbchen zeigte ein ähnliches auffallendes Verhalten zum Luftsauerstoff, wie der Hühnerdiphtheriebacillus (s. unten).

#### Mikroskopisches Aussehen der Hühnerdiphtheriebacillen.

In den Präparaten der diphtherischen Beläge fand ich, wie gesagt, grampositive Stäbchen, etwa nur ein  $\frac{1}{2}$ — $\frac{1}{3}$  an Länge und Breite des Diphtheriebacillus, unter sich aber in der Form und Größe von ovoiden fast kokkenartigen Gebilden schwankend bis zu schlanken Stäbchen, deren Länge das 4—6fache der Breite maß. Häufig fand ich bei diesen Stäbchen Parallellagerung und V-Formen. Man kann wohl annehmen, daß unter diesen im Ausstrichpräparate gesehenen Gebilden die zu suchen sind, die auf Blutagar die beschriebene charakteristische Hofbildung hervorrufen.

Auf den meisten Nährböden wächst der Hühnerdiphtheriebacillus als ein ziemlich schlankes Stäbchen, gleichsam eine „Miniaturausgabe“ des Diphtheriebacillus. Er färbt sich gut nach Gram. Stets findet man die für die Mitglieder der Diphtheriegruppe charakteristische Parallellagerung und die V-Formen. Länge und Dicke wechseln meist selbst im gleichen Präparat erheblich, weshalb sich absolute Maße schlecht geben lassen; auch diese Ungleichmäßigkeit gehört ja zu den Kennzeichen der Diphtheriegruppe. Verzweigungen scheinen sehr selten vorzukommen, jedoch habe ich einige auf Blutagar gesehen. Polkörner nach Neisser oder nach Ljubinsky (93) sah ich in Kulturen nie; jedoch sah ich, allerdings nur einmal, solche gut ausgesprochen in Meerschweincheneiter, welcher durch den Hühnerdiphtheriebacillus in Reinkultur im retrosternalen Bindegewebe hervorgerufen war. In diesem Eiter fanden sich auch schöne Kolben- und Hantelformen ganz wie beim Diphtheriebacillus, nur wieder mit kleineren Maßen. Solche Endanschwellungen sah ich in den meisten derartigen Eiterungen, Polkörnerfärbung jedoch nie mehr. Je nach dem Alter, dem Sitz etc. dieser Eiterungen wechselt auch die Gestalt der Bacillen sehr, ebenso wie die Beschaffenheit des Eiters (s. unten). So sah ich in dem schleimigen Eiter einer pyämischen Kaninchencoxitis viele dem Tuberkelbacillus ähnliche Formen, ferner solche, deren Länge etwa das 20fache der Dicke betrug, neben fast kokkenartigen Gebilden. Die Aussaat zeigte Reinkultur. Bei früher von mir gefundenen Diphtheriebacillen-ähnlichen Stäbchen habe ich eigentümliche grampositive Körner in dem sich entfärbenden Bakterienleib auf bestimmten Nährböden als konstantes Merkmal bezeichnet; derartige Bilder habe ich vereinzelt auch beim Hühnerdiphtheriebacillus beobachtet; so einmal auf einer 4-tägigen Milchagarplatte in Wasserstoffatmosphäre, ferner einmal auf Sputum- und Eigelbagar und einmal, nicht immer, auf Löffler-Serum. Inwieweit diese Körner auf derartigen Nährböden konstant vorkommen, und warum sie gerade dort nur auftraten, weiß ich noch nicht.

Echte Sporen fand ich nie; auch wurden junge und alte Blutagarkulturen, ferner die im Meerschweincheneiter befindlichen Stäbchen durch halbstündiges Erhitzen auf 58° abgetötet. Der Hühnerdiphtheriebacillus ist unbeweglich; die Zettnow-Färbung zeigte keine Geißeln. Die Stäbchen sind nicht säurefest.

### Ansprüche an Temperatur und Nährboden im allgemeinen.

Bei 18° auf keinem Nährboden Wachstum. Bei 24° wächst das Stäbchen auf den ihm überhaupt zusagenden Substraten, jedoch wesentlich langsamer und schwächer als bei 70°. Kein Wachstum auf Wasser- oder Glycerinkartoffeln. Für aerobe Plattenkulturen fand ich nur eiweißhaltige Nährböden, wie Blut-, Serum-, Milch-, Sputum-, Eigelb-Agar resp. -Gelatine geeignet. Anaërob gedeiht es auch ohne diese Zusätze. Die Uebertragbarkeit währt unter günstigen Umständen monatelang. Kulturen auf verschiedenen Nährböden, die ich bei 18° 1 Monat hatte stehen lassen, wo sie nicht wuchsen, zeigten dann bei 37° ein gutes Wachstum wie bei frischer Aussaat. Schräge Blutagarröhrchen und Serumagar-röhrchen, 2 Tage bebrütet, dann 3 Monate bei Zimmertemperatur vor Verdunstung geschützt, waren noch gut übertragbar.

Die Austrocknung solcher Röhrchen verhindere ich, indem ich den Wattedropfen abnehme, mit dem unteren Ende in geschmolzenes Paraffin tauche, dann das Röhrchen wieder damit verschließe. Das erstarrte Paraffin bildet einen luft- und keimdichten Verschuß, der sich im Nu über der Sparflamme des Bunsenbrenners wieder löst. Er eignet sich auch, um selten gebrauchte Nährbodenröhrchen brauchbar aufzubewahren. Bei den vorliegenden Studien habe ich ihn bei allen beimpften Röhrchen benutzt, da ich dieselben meist wochenlang im Brutschrank hielt.

### Wachstum auf Blutagar und Blutgelatine.

Blutagar dürfte der wichtigste Nährboden für den Hühnerdiphtheriebacillus sein. Bei Oberflächenaussaaten nach 24 Stunden kleine Kolonien; nach 48 Stunden charakteristische Hofbildung im durchfallenden Licht. In einigen Tagen erreicht die Kolonie einen Durchmesser von höchstens 2—3 mm, und sitzt dann manchmal wie eine weiße Halbkugel auf der Mitte des farblosen und durchsichtigen, linsen- bis erbsengroßen Hofes. Bei Schüttelkulturen bleiben die unregelmäßig wetzsteinförmigen (60:1) Kolonien sehr klein, fast punktförmig, während die Höfe fast den gleichen Durchmesser wie bei Oberflächenkolonien haben. In Wasserstoffatmosphäre ist das Wachstum anscheinend noch etwas üppiger, im übrigen nicht verschieden. Bei 24° entspricht das Wachstum am 6. Tage etwa einer 48-stündigen Brutschrankkultur. Traubenzucker-Blutagar verhält sich im wesentlichen ebenso, doch hat er nicht die schöne hellrote Farbe.

**Herstellung des Blutagars:** Ich nahm einen 400 ccm Erlenmeyer-Kolben mit 250 ccm flüssigem Agar von etwa 45° (handwarm); mittels Kanüle wurde aus der Vena jugularis Ziegenblut direkt in diesen fortwährend leicht geschüttelten Agar hineingelassen, etwa 25 ccm. Dieses Verhältnis von 1:10 braucht durchaus nicht genau inne gehalten zu werden, jedoch tritt die Hofbildung bei zu großem Blutgehalte schlecht hervor. Auch Hühner- und Kaninchenblut scheinen geeignet zu sein. Das Blut 14 verschiedener Ziegen erwies sich als gleich geeignet, obwohl nur einige davon normal waren, die meisten aber als Immuntiere (Cholera, Typhus etc.) dienten. In Petri-Schalen ausgegossen, bleibt der Nährboden, kühl und dunkel aufbewahrt, 8—14 Tage brauchbar zu Oberflächenaussaaten; schräge Röhrchen, zuparaffiniert, halten sich wochenlang.

**Konservierung der Blutplatten:** Blutagarplatten bilden schöne Demonstrationsobjekte. Bei einfachem Aufbewahren, auch bei gehinderter Verdunstung, verlieren sie aber bald die schöne Farbe, auch diffundieren Bakterienhämolsine immer weiter in den Nährboden hinein. Nach einigen vergeblichen Versuchen ist es mir gelungen, solche Kulturen zu konservieren. Hierzu paßte ich das Picksche Verfahren zur Farbenkonservierung von Leichenteilen dem vorliegenden Zwecke an. Die Plattenkulturen stellte ich ohne Deckel in Gefäße mit der Lösung: 50 g Sal. Carol. fact. + 50 ccm Formalin in 1000 ccm destilliertem Wasser, 4—8 Stunden lang. Dann wurden die Schalen, ähnlich wie photographische Platten, in langsam strömendem Leitungswasser einige Stunden gewässert; dann 4—8 Stunden lang in Gefäße mit 85-proz. Alkohol gestellt; hierauf einige Tage in Gefäße mit der Pickschen Schluß-

**Lösung:** Aq. destill. 900 ccm; Kalium acet. 270 g; Glycerin. pur. 540 ccm. Da das Belassen der Platten in dieser Lösung für Demonstrationszwecke zu unhandlich ist, versetzte ich die Plicksche Schlußlösung mit 10 Proz. Gelatine, füllte die Schale völlig damit aus, ließ erstarren, goß auf das Erstarre noch etwas von dieser Gelatinelösung, legte den Deckel auf, der dann event. von obenher durch die Bunsenflamme noch etwas erwärmt wurde; so läßt sich der Raum zwischen Kultur und Deckel ohne Luftblasenbildung mit einer starren klaren Masse ausfüllen, wodurch auch Kondenswasserbildung vermieden wird.

**Blutgelatine:** Zubereitung wie Blutagar. Impfstriche auf der Oberfläche zeigen bei 24° langsames, aber deutliches Wachstum, verflüssigen den Nährboden und vernichten den Blutfarbstoff im Bereich der Verflüssigungszone. In Stichkulturen, soweit erkennbar, trichterförmige Verflüssigung. Bei Strichkulturen auf schräg erstarrten Röhrchen fließt der Nährboden in der Umgebung des Impfstriches durch Verflüssigung herunter.

#### Wachstum auf Serumagar und Serumgelatine.

**Serumagar:** verdient als Nährboden besonders deshalb hervorgehoben zu werden, weil er fast der einzige klar durchsichtige Nährboden ist, auf dem der Hühnerdiphtheriebacillus in Oberflächenkolonien gut wächst. Ich benutzte keimfrei gewonnenes Ziegen Serum, vermischte 1 Teil des auf 60° erwärmten Serums mit flüssigem Agar von derselben Temperatur. Oberflächenkolonien erreichen etwa 1 mm Durchmesser, zeigen (60:1) eine körnige Struktur, meist mit etwas dunklerer Mitte. Tiefenkolonien sehen unregelmäßig wetzsteinförmig, nicht sehr charakteristisch aus. Ueber dunklem Hintergrunde kann man bei isolierten Kolonien eine leichte milchige Trübung der Umgebung nach mehrtägigem Wachstum feststellen, schwächer als die Serumagarkolonien des Diphtheriebacillus und meines diphtheriebacillenähnlichen Stäbchens dies zeigten. Auch scheint die Trübung, nach Cobbets Ansicht durch Säurebildung bewirkt, bald wieder geringer zu werden, wie ich vermute, durch die proteolytischen Enzyme des Bacillus. In Stichkulturen sah ich gutes ziemlich gleichmäßiges Wachstum entlang dem ganzen Striche; leicht bräunliche Verfärbung des Nährbodens in der Umgebung. Serumagar-Schüttelröhrchen zeigten nach 48 Stunden bei 37° nur in der Nähe der Oberfläche deutliches Wachstum; am 3. Tage begann es auch in den tieferen Teilen und holte bald das Wachstum im Bereiche des Sauerstoffs ein. Auch in solchen Schüttelröhrchen tritt deutliche, aber mäßige Trübung des Nährbodens ein. Am schönsten konnte ich dieselbe verfolgen, als ich zufällig in einer Verdünnung eine einzige Kolonie in der Mitte des Nährbodens erhielt. Dieselbe wuchs im Laufe eines Monats bis zu 3 mm Durchmesser heran und zeigte fächerartige Auswüchse. Die Trübung des Nährbodens breitete sich langsam weiter aus, nach einem Monat bis 15 mm vom Zentrum der Kolonie entfernt, war jedoch an der Peripherie weitaus am stärksten, während sie in der Nähe der Kolonie beinahe verschwunden war, vermutlich, wie gesagt, durch Proteolyse. Zu Demonstrationszwecken konnte ich derartige Röhrchen in jedem Stadium der Trübung und des Wachstums durch halbstündiges Erhitzen auf 60° fixieren.

**Serumgelatine:** Herstellung wie Serumagar. In Plattenschüttelkulturen beginnt bei 24° nach 3—5 Tagen sichtbare Kolonienbildung und bald folgende Verflüssigung des Nährbodens. Die Kolonien sind (60:1) stark körnig mit ausgefranstem Rand. Ein Schüttelröhrchen zeigte nach 6 Tagen folgende auffallende Erscheinung: 10 mm unter der Oberfläche

begann eine 17 mm hohe Zone der Verflüssigung und der Aufhellung des an sich trüben Nährbodens; darüber und darunter war der Nährboden noch fest und nicht aufgehellt. 2 Tage später war das ganze Röhrchen verflüssigt. Also ein schnelleres Wachstum im Bereiche einer bestimmten Sauerstoffkonzentration (Näheres s. unten).

### Wachstum auf Milchagar.

Gleiche Teile abgerahmte Milch und Nähragar bei 100° gemischt. Bei Oberflächenaussaaten auf derartigen Platten sind Einzelkolonien nach etwa 40 Stunden als kleine Punkte erkennbar mit deutlicher Hofbildung, indem der deckfarbene weiße Nährboden völlig durchsichtig wird. Schüttelkulturen mit genügend isoliert stehenden Kolonien geben die schönsten Bilder. Ich fixierte solche Platten durch Uebergießen mit Formalin; nachher wurden die Platten ausgefüllt, wie oben beschrieben. Ältere Kulturen riechen deutlich nach Milchsäure. — Plattenkulturen in Wasserstoffatmosphäre verhielten sich im Wachstum nicht anders als aerobe.

### Wachstum auf Löffler-Serum.

Entsprechend den Impfstichen auf Platten bemerkt man schon nach 24 Stunden eine deutliche Aufhellung, Erweichung und Einsenkung, dabei kann man zu dieser Zeit die Kolonien nur bei genauerem Zusehen oder bei schwacher Vergrößerung erkennen. Sie wachsen in einigen Tagen bis zu etwa 2 mm Durchmesser heran, sind glasartig durchsichtig; (60:1) leicht gekörnt. Einzelkolonien liegen am Grunde einer etwa 5 mm breiten Delle und zeigen meist, wohl infolge der Verdunstung, sternartige meist dreizackige, mikroskopisch sichtbare Kristalle. Bei dichtstehendem Wachstum liegen weniger charakteristische kristallinische Gebilde teils in, teils zwischen den Kolonien. In Wasserstoffatmosphäre war das Wachstum ebenso; bei 24° aerob entsprechend langsamer. Bei schräg erstarrten Löffler-Serum- und Hammelserumröhrchen rutscht der Nährboden dem Impfstich entsprechend infolge der Erweichung herab.

### Wachstum in Agar.

Am auffallendsten ist es in Schüttelröhrchen; um in diesen eine möglichst gleichmäßige Kolonienverteilung zu erhalten, wurden dieselben durch wiederholtes vollständiges Umkehren gemischt; von dem erwähnten Paraffinverschluß habe ich hierbei mit Vorteil Gebrauch gemacht. Nach 3 Tagen sieht man Einzelkolonien; merkwürdigerweise sind dieselben jedoch nur in bestimmten Schichten des Röhrchens vorhanden; z. B. blieb eine 10 mm hohe Schicht unter der Oberfläche ohne Wachstum, dann folgte eine 10 mm hohe Schicht mit Kolonien, dann wieder eine 15 mm hohe ohne Wachstum, worauf dann bis zum Grunde des Röhrchens Wachstum vorhanden war. Derartige Schichtenbildung wurde bei oft wiederholten Versuchen stets beobachtet, auch in Glycerin-, Traubenzucker- und Milchzucker-Agar. In einem Traubenzuckeragarröhrchen sah ich einmal sogar 3 Wachstumszonen: 9 mm unter der Oberfläche begann eine 5 mm dicke Kolonienzone, 6 mm unter dieser eine zweite 5 mm dicke, 20 mm unter dieser die letzte bis zum Grunde reichende. Die Dicke der wachstumsfreien und der Kolonienzonen wechselt in jedem Röhrchen. Durchschnittlich beginnt die erste Kolonienzone etwa 10 mm unter der Oberfläche, doch sah ich sie vereinzelt bis ganz dicht an die Oberfläche heranreichen; und so ist es erklärlich, warum ich in seltenen Fällen auch in Plattenschüttelkulturen Wachstum sehen konnte, wo

dies für gewöhnlich nicht stattfindet. Die wechselnde Schichtenlagerung dürfte verschiedene schlecht kontrollierbare Gründe haben, wie Zeitdauer des Flüssigbleibens, des Erstarrens des Nährbodens etc.; denn das Wachstum ist wohl zweifellos an die Menge des gerade absorbierten Luftsauerstoffs gebunden (s. unten). Agarplatten zeigen für gewöhnlich, wie gesagt, kein Auskeimen von Einzelkolonien; wenn man jedoch oberflächlich eine dicke Aussaat macht, kommt es manchmal zu einem ganz dünnen schleierartigen Rasen von körniger Struktur (60:1), der makroskopisch eben sichtbar ist. Die große Masse vermag also, wenn auch nur kümmerlich, die ungünstigen Sauerstoffverhältnisse zu überwinden. Ein analoger Vorgang findet bei frischen Stichkulturen statt, wo das Wachstum dem ganzen Stiche entlang ziemlich gleichmäßig ist. Als ich jedoch eine solche Agarstichkultur 1 Monat bei 18° hatte stehen lassen, wo kein Wachstum eintrat, und sie dann in den Brütschrank setzte, fand ausgesprochenes Schichtenwachstum statt: 10 mm unter der Oberfläche begann eine 13 mm lange Wachstumsstrecke, der eine 12 mm große Lücke folgte, worauf der Stich bis zum Grunde des Röhrchens wieder Wachstum zeigte. In Wasserstoffatmosphäre in Agar- und Traubenzuckeragar-Schüttelkulturen auch in Platten deutliches Wachstum.

#### Wachstum in Gelatine.

In Plattenkulturen sah ich nie Wachstum. In Schüttelröhrchen bei 24° langsames Wachstum in der Tiefe, ähnlich wie bei Agar: bald folgende Verflüssigung.

#### Wachstum in Bouillon.

Ziemlich gutes Wachstum, mit mäßigem, leicht aufzuwirbelndem Bodensatz; die Flüssigkeit selbst wird kaum getrübt. Bei Serumzusatz besseres Wachstum.

#### Wachstum in Milch.

Bei 37° am 3. Tage sehr feinflockige Gerinnung. Die sich spontan sedimentierenden Gerinnsel machen nur etwa  $\frac{1}{4}$  der gesamten Flüssigkeitshöhe aus. Darüber steht das klare Milchserum. Die Gerinnsel werden nicht wieder peptonisiert. Bei 24° erfolgt die Gerinnung etwa am 6. Tage. Keine Gasbildung.

#### Chemische Leistungen.

Säurebildung ohne Gasentwicklung findet statt, sowohl aus Traubenzucker wie aus Milchzucker. Die Barsiekowschen Nährböden: Dextrose-Nutrose-Lackmusmolke und Laktose-Nutrose-Lackmusmolke werden gerötet, gerinnen aber nicht, sondern zeigen nur opalisierende milchige Trübung. Lackmusmolke war am 3. Tage stark gerötet; am 4.—5. Tag im unteren Teil des Röhrchens Reduktion des Farbstoffes. In Traubenzuckeragar-Schüttelröhrchen und in Milch bei gutem Wachstum keine Gasbildung.

Proteolytisches Enzym bewirkt die beschriebene Verflüssigung der Gelatine und die Erweichung des erstarrten Serums. Gelatinekulturen bei 37° erstarren schon nach 2 Tagen nicht wieder. Das Enzym wird auch in Nährböden gebildet, wo es kein Objekt findet: Ueberträgt man reichlich von Blutagarkultur auf Gelatine, so sieht man auch bei Zimmertemperatur bald eine Einsenkung, obwohl kein Wachstum stattfindet; ferner versetzte ich eine 4-tägige Bouillonkultur mit 5 Proz. Phenol;

mit 1 ccm davon überschichtete ich 5-proz. Gelatine in einem Röhrchen; in 50 Tagen war die Gelatine allmählich fortschreitend bis in 22 mm Tiefe verflüssigt, wie die Marken auf einem angeklebten Papierstreifen zeigten. Die Wiederaufhellung der Serumagartrübung und zum Teil wenigstens auch die Hofbildung in Milchagar möchte ich ebenfalls auf proteolytisches Enzym zurückführen; allerdings wurde das in Milchkulturen ausgefällte Kasein nicht wieder peptonisiert. Ungeronnenes und durch Hitze koaguliertes Hühnereiklar wurde in Bouillonröhrchen nicht gelöst. Ein auf 100° erhitzter Ziegenblutkuchen wurde in einer Bouillonkultur nicht gelöst; wohl aber, wenn auch langsam, derartige nicht erhitzte Blutkuchen, so daß also unerhitztes Fibrin, wie es ja auch wohl in den Exsudatmassen der Hühner vorkommt, angegriffen zu werden scheint. Ein zur Kontrolle mit einem Gelatineverflüssigenden und stark Hämolsin-bildenden weißen Staphylokokkenstamm beimpfter Blutkuchen, in Bouillon schwimmend, wurde innerhalb 4 Monaten bei 37° nicht angegriffen. Bildung peptonisierender Enzyme hat der Hühnerdiphtheriebacillus gemeinsam innerhalb der Diphtheriegruppe mit dem Kleinschen *Bact. diphtheroides* und einer von Babes beschriebenen „Diphtheridee“; ich habe mehrere dem Diphtheriebacillus nahestehende verflüssigende Arten aus der Luft isoliert, die bisher noch nicht beschrieben sind.

**Hämolyse und Blutfarbstoffvernichtung:** Die Bildung eines farblosen Hofes auf Blutagarplatten zeigt, daß von den Stäbchen ein (enzymartiger?) Stoff abgesondert wird, der das Hämoglobin nicht (nur?) auslaugt, sondern es in ein farbloses Produkt umwandelt. Diese Fähigkeit hat der Hühnerdiphtheriebacillus mit vielen Eitererregern gemeinsam. Sie zeigte sich auch auf Platten in Wasserstoffatmosphäre. Versetzt man Bouillonröhrchen mit einigen Tropfen ausgewaschener roter Blutkörperchen oder durch Blutegelextrakt (101) ungerinnbar gemachten Blutes, so tritt bei 24-stündigem Wachstum totale Hämolyse ein. Da die Hämolsinbildung sich ähnlich verhielt wie die des von mir (102) beschriebenen diphtheriebacillenähnlichen Stäbchens, so habe ich genauere Untersuchungen darüber bis jetzt nicht gemacht.

(Schluß folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Zellenparasitismus in der Syphilis.

Von

**Dr. Ivo Bandi**

und

**Dr. Francesco Simonelli**

Dozent der Hygiene und Mitdirektor  
des serotherapeut. toskan. Institutes.

Dozent der Dermosyphilopathie und  
Assistent an der dermosyphil. Klinik.

Ins Deutsche übertragen

von Prof. Oliviero Negri von Montenegro aus Bologna.

In einem in der Sitzung der kgl. Accademia dei Fisiocritici vom vergangenen Jahre vorgebrachten Berichte, welcher dann auch in der „Gazzetta degli Ospedali e delle Cliniche“, in der „Riforma Medica“ und im „Centralblatt für Bakteriologie“ veröffentlicht wurde, und in dem wir die Resultate unserer Forschungen über das Vorhandensein der Spirochäte von Schaudinn und Hoffmann in den syphilitischen

Produkten mitteilten, hoben wir hervor, wie unsere Aufmerksamkeit von der Tatsache angezogen worden war, daß die Spirochäten des von Schaudinn beschriebenen Typus sich außer frei, noch den spezifischen Erscheinungen entsprechend, im Protoplasma einiger Zellen angehäuft vorfanden.

Wie wir schon in unserer ersten Arbeit mitteilten, haben wir im Verlaufe unserer Forschungen in drei mit dem vom Grunde korrosiver und auch hypertrophischer Papeln abgeschabten Materiale zubereiteten Präparaten wirkliche Anhäufungen von Spirochäten beobachtet, ein Vorfall, welcher auch von Levaditi bemerkt und von ihm als ein Agglutinationsphänomen betrachtet wurde. In Wirklichkeit haben wir in unseren Präparaten die Spirochäten in großen Anhäufungen, wie die von Levaditi beschriebenen, nur im Innern der Zellen beobachtet, und es schien uns nicht, daß man unter solchen Umständen an ein Agglutinationsphänomen denken könnte.

In der Tat schrieben wir in der oben erwähnten Note:

„Die Umstände, unter welchen wir diese Gruppierungen gefunden haben, lassen uns unter der Annahme, daß die *Spirochaete pallida* in Wirklichkeit das spezifische Agens der Syphilis sei, an einen wahrhaftigen Zellenparasitismus denken, weil man diese Keimgruppierungen beständig in der Dicke des Zellenprotoplasmas des Grundes der Papeln wahrgenommen hat, eine Auslegung, die nach unserer Meinung mit dem Wesen der syphilitischen Erscheinungen, denen das der Untersuchung unterworfen Material entnommen worden war, in Beziehung zu stehen scheint“.

In der oben erwähnten und in einer anderen außerordentlichen Sitzung zeigten wir einige mit der Methode von Giemsa und mit der Universalfärbung gefärbte Präparate, welche etliche dieser parasitierten Zellen enthielten, die wir dann auch in den durch Einimpfung syphilitischer Produkte erhaltenen Erscheinungen auf den Wölbungen über den Augenhöhlen eines niedrigen Affen vorfanden. In der diesen letzteren Versuch betreffenden Note, welche in der Gazzetta degli Ospedali e delle Cliniche, Jahrgang 1906, No. 3 veröffentlicht wurde, schrieben wir: „In diesem Falle haben wir es nicht unterlassen, mit dem durch Abschabung erhaltenen Materiale, und zwar sowohl in den frischen als in den mit der Methode von Giemsa und mit der Universalfärbung gefärbten Präparaten Einschnitte auszuführen, aber sowohl in dem einen wie im anderen Falle war es uns nicht möglich, irgend eine isolierte Form der *Spirochaete pallida* nachzuweisen; wohl aber fanden wir im Inneren der hydropischen Zellen mit wenig färbbarem und in den Umrissen schlecht begrenzten Protoplasma Anhäufungen sehr dünner filiförmiger Elemente, wovon die einen geradlinig, die anderen wellenförmig waren, d. h. denjenigen ähnlich, welche wir schon im vom Grunde korrosiver und hypertrophischer Papeln (von Patienten im ausgebildeten zweiten Stadium) abgeschabten Materiale als vorhanden beschrieben haben.“

Diese Elemente, welche in Anhäufungen angeordnet sind, und die Levaditi für agglutinierte Spirillen hielt, können wir nicht mit Sicherheit als Uebergangs- oder Involutionsformen der von Schaudinn und Hoffmann beschriebenen *Spirochaete* erklären; in jedem Falle haben sie, wie wir schon in unserer vorhergegangenen Arbeit mitgeteilt

haben, für uns die Bedeutung eines wahren und wirklichen Zellenparasitismus.“

Sowohl bei den syphilitischen menschlichen Erscheinungen, als auch bei den experimentellen Reproduktionsformen fiel uns also die Tatsache auf, daß wir die Spirochäten in die Masse des Protoplasma einiger in ihren histologischen Bestandteilen veränderter Zellen eingedrungen vorfanden. Darum konnten wir eben diese Spirochätenerscheinung nicht genau bestimmen.

Wir glaubten damals, wie auch heute noch, in solchen Fällen nicht von phagocytierten Keimen sprechen zu können, weil die endocellularen Parasiten in der Form sich unverändert zeigten, obwohl ein wenig unregelmäßiger als die extracellularen Schmarotzer, und weil sie die Affinität zu den Farbstoffen unversehr beibehielten, während die Zellen ganz augenscheinlich verändert waren und zum großen Teile die Anziehungskraft für die Farben verloren hatten. Infolgedessen hielten wir uns für berechtigt, in diesem Falle von Zellenparasitismus zu sprechen, ein Begriff, welcher übrigens mit dem Charakter der syphilitischen Infektion nicht unverträglich ist, bei welcher es wohl nicht unlogisch ist, zu denken, daß das spezifische Agens sich in den Geweben lokalisiert, indem es auf Kosten ihrer histologischen Bestandteile lebt.

Die Möglichkeit des intraprotoplasmatischen Lebens des Syphiliskeimes wurde von uns so zum ersten Male auf Grund jener wenigen und oberflächlichen Beobachtungen ausgesprochen, welche wir Gelegenheit hatten anzustellen, und ohne Zweifel wäre es von höchstem Interesse gewesen, in den Gegenstand weiter eindringen und die Grenzen feststellen zu können, in welchen dieser Zellenparasitismus auf die Entwicklung der syphilitischen Erscheinungen einen Einfluß ausüben kann.

Uns war dies wegen Mangels an Material unmöglich, während hingegen unsere Annahme in letzter Zeit von Levaditi erweitert und gut hervorgehoben wurde. Da genannter Autor ein reichliches Studienmaterial zu seiner Verfügung hatte, hat er über diesen Gegenstand höchst interessante Beobachtungen anstellen können, welche kürzlich in den *Annales de l'Institut Pasteur* unter dem Titel „L'histologie pathologique de la syphilis héréditaire dans ses rapports avec le spirochaete pallida“ veröffentlicht wurden.

Aus den Versuchen von Levaditi geht hervor, daß die *Spirochaete pallida* nicht den septikämischen Charakter anderer Spirillen, z. B. des *Spir. Obermeieri*, hat. Obwohl sie in den Blutbahnen von einem Organe zum anderen übergeht, verläßt sie dennoch bald das Lumen der Blutgefäße und setzt sich an den Wänden derselben fest, um sich dort zu vermehren. Von dort aus erreicht sie die edleren Zellen und das Bindegewebe und hängt sich an diese Elemente an, um eine mehr oder minder tiefe Veränderung hervorzurufen. Unter den Zellen, für welche die Spirochäte eine besondere Vorliebe aufweist, sind die Glandularepithelien zu erwähnen. Die Spirillen haben in der Tat die Eigenschaft, in das verhältnismäßig intakte Protoplasma gewisser Epithelialelemente einzudringen, wie z. B. Leber- und Nierenzellen, die Zellen der oberrenalen Kapseln und wahrscheinlich jene der Schweißdrüsen. Diese Tatsache ist überaus wichtig: „Sie zeigt an“, sagt Levaditi, „daß es irrtümlich wäre, ohne weiteres die Hypothese anzunehmen, nach welcher das pathogenetische Agens der Syphilis ausschließlich das Gefäß- und Bindegewebe angreift, eine Annahme, die von der Mehrheit der Läsionen der Gefäße bei den syphilitischen Prozessen abgeleitet wurde“.



Von nun an muß man unter den Elementen, die von der *Spirochaete pallida* beeinflußt werden können, nicht nur die Gefäße und das Bindegewebe zählen, sondern auch die Epithelialzellen, welche an der Bildung gewisser Organe teilnehmen.

Hinsichtlich des Vorhandenseins der Spirochäten im Protoplasma der genannten Zellen, handelt es sich darum festzustellen (Levaditi), ob das intraprotoplasmatische Vorhandensein der Parasiten ihrer aktiven Fähigkeit, in die anatomischen Elemente bei voller Lebenskraft einzudringen zuzuschreiben ist, oder ob es sich nur um ein agonisches Phänomen handelt, welches seinen Grund in dem sozusagen untätigen Zustand findet, in welchem sich diese Elemente während der wenigen Stunden, die dem Tode vorangehen, befinden. Um diese Aufgabe zu lösen, müßte man im lebenden Zustande fixierte Gewebe untersuchen, folglich, schließt Levaditi, wollen wir die Frage dahingestellt sein lassen und notieren den Vorfall. Wenn man beweisen könnte, fügt Levaditi noch hinzu, daß das intracellulare Vorhandensein der Spirochäten ein Lebensphänomen sei, würde man die Erklärung der Erhaltung des Virus syphiliticum während des Stadiums besitzen, das dem Ausbruche der Haut- und Eingeweidesymptome vorangeht.

Ohne den Lebenszyklus zu betrachten, den die Spirochäten innerhalb der Zellen, nach Analogie der Protozoen durchmachen, schützt sie dieses endocelluläre Leben gegen die vertilgende Tätigkeit der phagocytischen Elemente.

Wir sind der Meinung, daß unsere präliminären, gewiß unvollkommenen Beobachtungen, ohne, eben wegen der bescheidenen Anzahl, die Frage vollständig zu lösen, dennoch zu Gunsten des möglichen aktiven Eindringens der Spirochäten in die Elemente bei deren voller Lebenskraft sprechen; denn die von uns beobachteten parasitierten Zellen, mochten sie zu Schweißdrüsen gehörende Epithelialzellen sein, oder solche, die zum Epithelium der Schleimhäute gehörten, auf welchen die untersuchten syphilitischen Läsionen erwachsen waren (was wir nicht genau feststellen konnten, da es sich um veränderte Elemente und um durch Abschabung erhaltenes Material handelte), stammten alle aus Geweben, die sich in voller Lebenskraft befanden.

In jedem Falle liegt es uns sehr daran, noch einmal die Aufmerksamkeit der Herren Kollegen auf den „Zellenparasitismus in der Syphilis“ zu lenken, den wir als die ersten ankündigten und den Levaditi Gelegenheit hatte, noch augenscheinlicher zu machen, wobei wir den aufrichtigen Wunsch ausdrücken, daß andere, Glücklichere als wir, bald die Frage endgültig entscheiden mögen.

Siena, am 24. März 1906.

Nachdruck verboten.

## *Polyonchobothrium polypteri* (Leydig)

Von Dr. Bruno Klaptocz, Wien.

Mit 7 Abbildungen.

Im Jahre 1853 entdeckte Leydig (l. c.) im Spiraldarm von *Polypterus bichir* Geoffroy einen Parasiten, der „wohl in die Sektion der bewaffneten Bothriocephalen gehört“; er nannte ihn *Tetrabothrium polypteri*. Im darauffolgenden Jahre (1854) wurde dieser Cestode von Diesing (l. c.) als *Onchobothrium septicolle* zum Typus des neuen Subgenus *Polyonchobothrium* der Gattung *Onchobothrium* gemacht und dieses Subgenus in einer späteren Arbeit (1864 l. c.) zu einem Genus erhoben und etwas abseits von der Gattung *Onchobothrium* gestellt. Dem Genus *Polyonchobothrium* wies Diesing als zweifelhaft hierher gehörig auch noch *Polyonchobothrium crassicolle* (Wedl) (*Acanthobothrium crassicolle* Wedl, später als zur Gattung *Calliobothrium* gehörig erkannt) zu<sup>1)</sup>. Im Jahre 1890 wies Monticelli (l. c.) nach, daß *Polyonchobothrium septicolle* Diesing zwei flächenständige Saugnäpfe besitze und daß die 4 von Leydig erwähnten „Längsleisten“ am „Hals“ des Tieres — auf die Diesing den Namen *septicolle* gegründet hatte — nur die Ränder dieser Saugnäpfe darstellen.

Der Bau der Genitalorgane wie auch die Lage der Geschlechtsöffnungen war bisher unbekannt geblieben; auch Monticelli lagen keine geschlechtsreifen Proglottiden vor. Aus der marginalen Einkerbung — jedenfalls einer Verletzung (siehe Monticelli l. c., Taf. VIII. Fig. 2) — einer Proglottis, die bereits Anlagen der zentralen Genitalorgane zeigt, schloß er auf marginale Genitalatrien und vereinigte auf diesem irrtümlich angenommenen Charakter sowie auf der ähnlichen Skolexbildung fußend *Polyonchobothrium septicolle* Diesing mit *Bothriocephalus microcephalus* (Rud.), das tatsächlich marginale Genitalatrien besitzt, zu einem neuen Genus *Anchistrocephalus*.

Im Jahre 1902 gab Fuhrmann (l. c.) von einem angeblich aus einem Vogel, *Turdus parochus*, stammenden Cestoden mit flächenständigem, dorsalen Atrium genitale und ebensolcher, ventraler Uterusmündung eine ausführliche Beschreibung; er nennt diese Art, die jedenfalls mit *Polyonchobothrium polypteri* identisch ist, *Ptychobothrium armatum*. Fuhrmann (p. 445) nimmt nämlich nach Monticelli an, daß *Anchistrocephalus polypteri* Leydig, wie er *Polyonchobothrium polypteri* (Leydig) nennt, laterale Genitalmündungen habe, und weist darauf hin, wie gering der systematische Wert der Skolexbildung sei, da zwei Cestoden, die einen derart verschiedenen Proglottidenbau besäßen, andererseits wieder eine solche Aehnlichkeit der Skolices aufweisen, daß man sagen könne, „que les deux scolex sont identiques, même pour le nombre des crochets placés des deux côtés des bothridies“.

Die längsten Exemplare von *Polyonchobothrium polypteri* (Leydig), die mir vorliegen, erreichen 65—70 mm Länge, die größte Breite beträgt 3 mm. Der Skolex weist eine mittlere Länge von ca. 1 mm auf (Fuhrmann gibt als Skolexlänge seines *Ptychobothrium armatum* 1,1, als

1) Das „An species huius generis?“ (Diesing, 1864, p. 263) bezieht sich wohl auf *Polyonchobothrium crassicolle*, nicht aber auf das an die erste Stelle gesetzte *Polyonchobothrium septicolle*, wie auch schon angenommen wurde.

Breite 0,36 mm an), erreicht aber, an sehr gestreckten Exemplaren bis 1,8 mm Länge. In den Dimensionen des Querschnittes erreicht er die größte Ausdehnung vorn, in der Region der „Läppchen“, von wo er sich nach hinten etwas verjüngt. Die Maße betragen in Millimetern ungefähr:

	Durch die Läppchen	Unmittelbar hinter den Läppchen
Querdurchmesser:	0,46	0,36
dorsoventraler Durchmesser:	0,36	0,31

Die beiden Saugnäpfe erreichen ihre größte Tiefe nahe ihrem Vorderende; nach hinten flachen sie sich allmählich aus. Da sie verhältnismäßig seicht sind und auch ihre Muskulatur sowohl an sich wie auch insbesondere im Verhältnis zur Muskulatur der Haken schwach entwickelt ist (Fig. 1 und 2), ist es wohl wahrscheinlich, daß sie funktionell bereits größtenteils, wenn nicht gänzlich, durch die letzteren substituiert werden. Was die Zahl der Haken betrifft, so geben Leydig und Diesing für je eins der vier „Läppchen“ sechs, Monticelli acht, Fuhrmann bei den von ihm untersuchten Tieren sieben Haken an. Nach meinen Untersuchungen trägt jedes Läppchen acht Haken, von denen die mittleren, die größten, 0,1 bis 0,15 mm Länge erreichen; Fuhrmann gibt die Länge der größten Haken von *Ptychobothrium armatum* mit 0,136 mm, Leydig die Länge der Haken überhaupt mit 0,024 bis 0,05 „ an.

Ihre Größe nimmt von den in der Mitte eines Läppchens stehenden nach beiden Seiten ab, aber nicht nach beiden Seiten gleich; denn die Haken der Ventral- und Dorsalfäche, also jene, welche auf den Saugnäpfseiten liegen, sind größer als die entsprechenden, von den mittleren Haken gleich entfernten lateralen Haken.

Das Größenverhältnis der einzelnen Haken zu einander variiert an verschiedenen Scolices. Auch die Gestalt der Haken scheint etwas variabel zu sein, insofern nämlich ihre Spitze bald mehr bald weniger gekrümmt ist.

An einem der genauer untersuchten Scolices findet sich außer den bereits erwähnten 32 Haken, von denen jedem Läppchen acht zukommen, an den beiden Lateralseiten zwischen zwei Läppchen noch je ein Haken, die bei weitem kleinsten von allen; in diesem Falle sind also im ganzen 34 Haken vorhanden.

Diese Variabilität der Hakenbewaffnung, sowohl in Bezug auf die absolute und relative Größe und die Form der Haken, wie auch — im letztgenannten Fall — in Bezug auf die Zahl derselben — findet ihre Erklärung wohl darin, daß die Hakenbewaffnung zweifelsohne eine verhältnismäßig neue Erwerbung, bezw. einen werdenden Charakter darstellt; jedenfalls müssen aber 32 Haken als für den gegenwärtigen Stand der Art charakteristisch angesehen werden.

Daß die Haken einen relativ neuen Charakter darstellen, daß sie gegenüber den Saugnäpfen sekundäre Gebilde sind, geht aus folgenden Gründen hervor:

*Polyonchobothrium polypteri* ist unter den bisher bekannten Bothriocephaliden, welche der Lüheschen Subfamilie *Ptychobothriinae* zuzuzählen sind, die einzige Art, welche eine Hakenbewaffnung aufweist. Dagegen finden sich hier auch noch andere Formen mit ähnlicher Skolexbildung, d. h. auch mit 4 „Läppchen“. An den Läppchen nun, an den am weitest vorstehenden Teilen des Skolex, denen infolge ihrer relativ freien Lage auch eine erhöhte Beweglichkeit zukommen muß, werden Hakenbildungen selbst von geringer Größe jedenfalls den zweckdienlichsten Platz finden.

An diesen Stellen regster Inanspruchnahme haben sich also bei *Polyonchobothrium*, wohl aus den hier etwa  $0,5 \mu$  langen, härchenartigen Differenzierungen der Cuticula — die am Skolex sehr zarte Cuticula von *Polyonchobothrium* löst sich sehr leicht ab und ist an meinen Präparaten immer nur stückweise, besonders an geschützten Stellen, erhalten — die Haken entwickelt, ebenso wie sich die Plakoidschuppen der Selachier auf den Kiefernrandern in Zähne verwandelten. Auf denselben mechanischen Momenten beruht jedenfalls auch die besonders mächtige Entwicklung der Haken, die in den Achsen der Läppchen, den Diagonalen des Skolex, stehen, da sie die exponiertesten und daher auch die am meisten in Anspruch genommenen sind; und vom selben Gesichtspunkte aus erklärt sich auch die stärkere Ausbildung der dorsalen und ventralen Haken gegenüber den lateralen, da die ersteren auf den größeren Flächen und schon deshalb freier stehen. Auch die Hohlheit der Haken entspricht Festigkeitsgesetzen.

Wie bereits früher erwähnt, spricht auch die ganze Anordnung und Ausbildung der Muskulatur dafür, daß die Haken jetzt größtenteils oder gänzlich die Funktion der Saugnäpfe übernommen haben. Am deutlichsten erhellt dies, wenn man einen Querschnitt aus der Region der größten Tiefe der Saugnäpfe mit einem aus der Gegend der Haken vergleicht.

Außer der Hautmuskulatur und den längsverlaufenden Muskeln finden sich auf einem Skolexquerschnitt (Fig. 1 und 2):

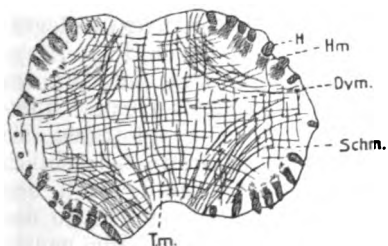


Fig. 1. Querschnitt durch den Skolex, sehr weit vorne. Vergr. ca. 110. Dvm. Dorsoventralmuskeln, Tm. Transversalmuskeln, Schm. Schrägmuskeln, Hm. Hakenmuskeln, H. Haken.

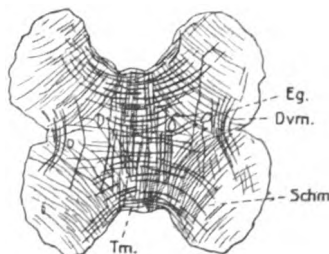


Fig. 2. Querschnitt durch den Skolex in der Gegend der größten Saugnäpftiefe. Vergr. ca. 110. Eg. Exkretionsgefäß. Uebrigere Bezeichnungen wie bei Fig. 1.

**Dorsoventrale Muskeln;** sie sind am stärksten in den medianen Teilen des Skolex ausgebildet, aber auch in den Seitenteilen, an den Einkerbungen, die durch Zusammenstoßen der Seitenwände der Saugnäpfe zustande kommen, sind sie ziemlich stark ausgebildet.

**Transversale Muskeln;** sie sind am stärksten in der Saugnäpfgegend entwickelt, wo sie parallel der Saugnäpffläche verlaufen, während sie sonst ziemlich genau in transversaler Richtung verlaufen.

**4 Schrägmuskelsysteme,** von denen jedes ungefähr auf ein Viertel des Skolexquerschnittes beschränkt ist; die der Längsachse des Skolex zunächst gelegenen Muskeln eines derartigen Systems inserieren einerseits an der Ventral- resp. Dorsalfäche etwas seitlich der Medianebene, andererseits lateral in der Nähe der Transversalebene. Dieses Muskelsystem ist am kräftigsten in den Läppchen entwickelt.

Außerdem kommt noch jedem einzelnen Haken eine besondere, kräftige Muskulatur zu, die vom Ursprung der Haken etwa in der

Richtung zur Skolexachse, also in der Richtung der Achse der Lappchen, verläuft; diese Muskelsysteme gehören aber nicht bloß den Querschnittsdimensionen an.

Kalkkörperchen<sup>1)</sup>, deren bereits Leydig gedenkt, finden sich auch im Skolex in großer Zahl. An Eisenhämatoxylinpräparaten läßt sich an ihnen nichts erkennen als die verschiedene Gestalt und Größe. Die größte Dimension, die sie — aber nur in einer Richtung — aufweisen, beträgt etwa 11  $\mu$ . In der Regel beträgt ihre Größe aber nur  $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$  des genannten Maximalmaßes. Ihre Gestalt erscheint auf Querschnitten meist gestreckt elliptisch, seltener rundlich; im ersteren Falle liegen sie so, daß ihre größere Achse parallel ist zur Richtung der Muskelfasern, zwischen denen sie liegen.

Ein ungegliederter Hals fehlt, wie schon Monticelli nachwies. Die Gestalt der Proglottiden, die bereits von Leydig und Monticelli geschildert wurde, ist von der jeweiligen Kontraktion sehr abhängig.

Leydig bildet (l. c. Taf. XI, Fig. 4) auch einige Proglottiden ab, bei denen die Länge die Breite bedeutend übertrifft, während in der Regel das Umgekehrte der Fall ist. Er bemerkt jedoch hierzu (p. 220): „Doch ist es gerade das letzte Körperl�d, welches unter so variabler Gestalt gesehen wird und fast durchweg den Eindruck macht, als ob es ein mehr abgestorbener Teil des Leibes wäre. Entweder nämlich endet der Wurm mit ein paar ovalen Gliedern von hellerer Farbe, als die vorhergehenden, oder die letzten Ringe sind von etwas gerissener und aufgelöster Beschaffenheit“.

Unter den zahlreichen Exemplaren, die ich zu untersuchen Gelegenheit hatte, weist nur eine einzige Kette — von etwas über 4 cm Länge und 2 mm Maximalbreite — am Ende einige Proglottiden ab, die den von Leydig gezeichneten ähneln. Von etwas gestreckter Gestalt übertreffen sie an Länge nicht nur alle vorhergehenden Proglottiden, sie stehen jenen, mit Ausnahme der vordersten, auch an Breite beträchtlich nach; an ihrem Vorder- und Hinterende also dort, wo sie mit den anderen zusammenhängen, sind sie am schmälisten und machen so den Eindruck, als ob sie im Begriffe stünden, sich abzulösen. Ihr ganzes Aussehen macht auch den Eindruck, als ob sie bereits abgestorben wären.

Da andererseits bei sämtlichen reifen Proglottiden die Breite bedeutend größer ist als die Länge — wie auch bei Fuhrmanns *Ptychobothrium armatum* —, liegt der Schluß nahe, daß die ersten, ältesten Proglottiden einer Kette, bei denen die Länge die Breite überwiegt, abgestoßen werden, ohne jemals zur Reife zu gelangen, obwohl sie Geschlechtsanlagen zu enthalten scheinen.

Was die Anatomie der reifen Proglottis anbelangt, so stimmt sie, von einigen geringfügigen, relativen, wohl durch Variabilität bedingten Unterschieden abgesehen, ganz mit dem überein, was Fuhrmann von seinem Vogelcestoden beschreibt.

Parallel zur Ventral- und Dorsalfäche sowie zu den Seiten der Proglottis verläuft der mächtige Schlauch aus Längsmuskulatur, der nur vom Atrium genitale sowie von der Uterusöffnung durchbrochen wird. Dieser Muskelschlauch ist am mächtigsten in den medianen Partien entwickelt, in den seitlichen Teilen nur schwach (Fig. 5). Zahlreiche Muskelfasern durchziehen, dorsoventral verlaufend, den Längsmuskelschlauch; am spärlichsten unter der Parenchymmuskulatur, aber immer-

1) Sie sind auf Fig. 1 und 2 ebensowenig wie die Längsmuskulatur dargestellt.

hin noch in größerer Anzahl, sind die Transversalmuskeln vorhanden; gleich den dorso-ventral verlaufenden Muskelfasern sind sie auch erheblich schwächer als die den Längsmuskelschlauch zusammensetzenden Fasern.

Atrium genitale und Uterusmündung liegen beide flächenständig und median, ersteres etwa in der Mitte der dorsalen Proglottidenfläche, letztere ventral, nahe der Vorgrenze der Proglottis (Fig. 6).

Das deutlich ausgeprägte Atrium genitale erreicht seine größte Ausdehnung quer zur Proglottidenachse (Fig. 3 und 5). Was zunächst die männlichen Genitalorgane anlangt, so liegen die Hodenbläschen in der Markschicht, und zwar in den seitlichen Teilen derselben. Ihre Zahl ist auf meiner Flächenschnittserie etwas größer als Fuhrmann angibt („40 bis 45“), nämlich ungefähr 60 in einer Proglottis. Sie liegen einschichtig, in gleicher Zahl rechts und links von der Medianebene. Jede dieser beiden Hälften zerfällt wieder in zwei Teile, die, wie schon Fuhrmann angibt, durch einen Längsnervenstamm, sowie durch ein reichlich kleinere Aeste aussendendes, längsverlaufendes Exkretionsgefäß voneinander getrennt werden. Dieses größte Exkretionsgefäß der Proglottis liegt etwas ventral (es liegt nämlich dem ventralen Teil des Längsmuskelschlaches an), aber noch in der Markschicht. Der innere dieser beiden Teile enthält etwa 12, der äußere durchschnittlich 18 Hodenbläschen.

Ihr transversaler Durchmesser ist dem dorso-ventralen ungefähr gleich; im Maximum beträgt einer von ihnen etwa  $48\ \mu$ . Der longitudinale Durchmesser scheint immer etwas geringer zu sein.

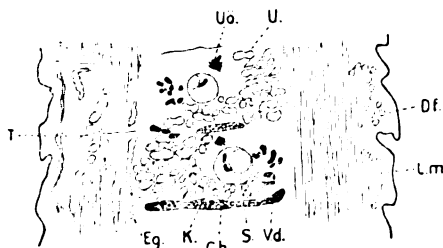


Fig. 4. Flächenschnitt durch zwei reife Proglottiden, halbschematisch. Vergr. ca. 35. Df. Dotterfollikel, Lm. Längsmuskeln, Eg. Exkretionsgefäß, K. Keimstock, Cb. Cirrusbeutel, S. Samenblase, Vd. Vas deferens, T. Hodenbläschen, U. Uterus, Uo. Innerster Teil des muskulösen Endabschnittes des Uterus.

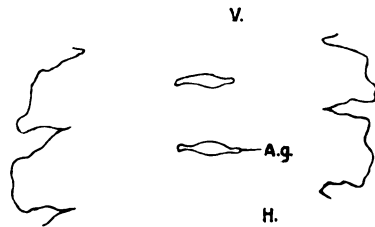


Fig. 3. Flächenschnitt durch 2 Proglottiden, nahe der Dorsalfäche, um die Gestalt der Genitalatrien zu zeigen. Vergr. ca. 40. A.g. Atrium genitale, V. vorn, H. hinten.

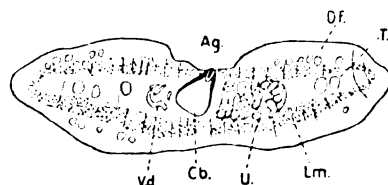


Fig. 5. Querschnitt durch eine reife Proglottis, halbschematisch. Vergr. ca. 35. Ag. Atrium genitale. Die übrigen Bezeichnungen wie bei Fig. 4. Im Uterus sind hier die Eier gezeichnet.

Das Vas deferens, das weitleumiger, aber dünnwandiger ist als der Cirrus, liegt in einer Seite der Proglottis neben dem Cirrusbeutel, während auf der anderen der Uterus gelegen ist. Die Vas deferens-Seite der Proglottis ist in den aufeinander folgenden Gliedern nicht

immer dieselbe, sondern bald die rechte, bald die linke; dieses Verhältnis alterniert unregelmäßig (Fig. 4).

Der stumpf-birnförmige Cirrusbeutel mündet am Grunde des Vas deferens, vor der Vagina. Seine Wand weist eine sehr stark entwickelte Ringmuskulatur auf. Die Achse des Cirrusbeutels steht windschief zur Dorsalfäche der Proglottis: einerseits ist sie etwas nach vorn geneigt, andererseits auch nach der Seite der Proglottis, in der das Vas deferens liegt (Fig. 4—6).

Der Cirrusbeutel ragt in dorso-ventraler Richtung weit über die Hälfte der Proglottidendicke hinaus, er reicht bis nahe an den ventralen Teil des Längsmuskelschlauches. Das lockere Parenchym der Markschicht erscheint in der nächsten Umgebung des Cirrusbeutels besonders großmaschig und ist in einiger Entfernung von demselben stark verdichtet, so daß auf diese Weise eine schwache Hülle zu stande kommt, die parallel zu den Wänden des Cirrusbeutels verläuft und auch mit Eisenhämatoxylin sich schwarzfärbende Elemente, also wohl solche muskulöser Natur, enthält.

Die Maximalmaße des Cirrusbeutels betragen in Millimetern:

Länge (= Achse)	0,212
Querdurchmesser	0,165
Durchmesser parallel der Proglottidenachse	0,154

Das Vas deferens tritt an das Innenende des Cirrusbeutels heran — in diesem distalsten Teile ist es dickwandiger und von geringerem Lumen — und durchsetzt die Wand desselben an der ihm zugekehrten Seite. Unmittelbar nach seinem Eintritt bildet es eine dünnwandige Erweiterung, eine Samenblase, deren Durchmesser dem halben des Cirrusbeutels gleichkommen kann (Fig. 4). Von dieser Samenblase nimmt der bedeutend dickwandigere Cirrus seinen Ausgang, der im Cirrusbeutel mehrfache Schlingen bildet und hier außer durch Parenchym mittels sehr kräftiger Muskeln befestigt ist. Besonders verdient hervorgehoben zu werden, daß diese Muskeln — Retraktoren und Protraktoren, wie sie Fuhrmann beschreibt — quergestreift sind<sup>1)</sup>. Der Cirrus, dessen Lumen in der Richtung zur Mündung immer weiter wird, weist ebenfalls eine deutliche Ringmuskulatur auf und dichte Härchen von bis 6  $\mu$  Länge; da diese Härchen am eingestülpten Cirrus bis an den Außenrand reichen, müssen sie sich am ausgestülpten Cirrus außen befinden.

Auch die Vagina, die hinter dem Cirrus mündet, steht windschief zur Dorsalfäche der Proglottis: einerseits ist sie nach hinten gerichtet, andererseits nach der Seite der Proglottis, in der sich der Uterus befindet. Von ihrer Mündung, die den Cirrus halbmondförmig umschließt, erweitert sie sich zunächst bedeutend und verengt sich dann plötzlich (Fig. 6). Das Lumen dieses weitesten Teiles der Vagina beträgt etwa 40  $\mu$ , wird aber durch die die Vagina hier auskleidenden Härchen, die im weitlumigsten Teile auch ihre größte Höhe (12—15  $\mu$ ) erreichen, wieder entsprechend verengt. In diesem Teile weist die Vagina in der Wand kräftige Ringmuskulatur auf.

Auch weiterhin verhält sich der weibliche Genitalapparat ganz so, wie dies Fuhrmann von *Ptychobothrium armatum* schildert. Der verengte Teil der Vagina zieht nach hinten, zunächst ventralwärts, biegt dann um und zieht dorsalwärts. Wohl stets bildet er eine nach der

1) Bisher dürften quergestreifte Muskeln bei Cestoden wohl nur von den Rüsseln der Tetrarhynchen bekannt sein.

Uterusseite der Proglottis gewendete Schlinge (Fig. 7). Der dorsalwärts ziehende Teil ist der engste Abschnitt der ganzen Vagina: sein Durchmesser beträgt etwa  $5\ \mu$ ; das Lumen ist in Anbetracht der dünnen Wandungen nicht viel enger.

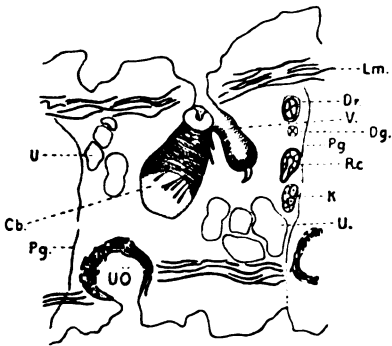


Fig. 6. Sagittalschnitt durch eine reife Proglottis. Vergr. ca. 100. Lm. Längsmuskeln, V. Vagina, U. Uterus, Uö. der letzte muskulöse Abschnitt des Uterus mit der Uterusöffnung, Cb. Cirrusbeutel, K. Keimstock, R.c. Receptaculum seminis, Dg. Dottergang, Dr. Dotterreservoir, Pg. Ungefähre Proglottidengrenze.

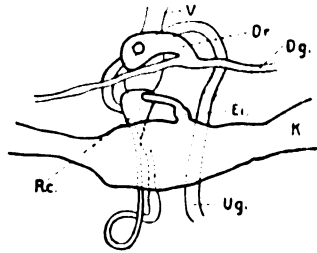


Fig. 7. Rekonstruktion der weiblichen Genitalgänge nach Querschnitten, von hinten gesehen. Ei. Eischluckapparat, Ug. Uteringang. Die übrigen Bezeichnungen wie bei Fig. 6.

Dieser letzte Teil der Vagina mündet ebenso wie der kurze Keimleiter in eine Erweiterung, das Receptaculum seminis, das etwas vor und dorsal vom Ovarialmittelstück gelegen ist (Fig. 7). Der Keimleiter beginnt mit einem kleinen, aber deutlichen Schluckapparat am Dorsalrand des Mittelstückes des Keimstockes. Der Keimstock liegt dem hinteren Proglottidenrande genähert, etwas ventral. Seine größte Dimension ist die transversale, nämlich etwa  $\frac{1}{3}$  der Proglottidenbreite, die geringste die im Sinn der Proglottidenlängsachse. In dorsoventraler Richtung übertreffen die seitlichen Teile, die Flügel, das Mittelstück; dieses ist genau in der Mitte der Proglottis, dort, wo der Schluckapparat ansetzt, etwas höher als rechts und links davon. Die Eizellen erreichen in der Umgebung des Schluckapparates einen größten Durchmesser von  $21\ \mu$ .

Vom Receptaculum seminis zieht der weibliche Gang dorsalwärts weiter und empfängt nun die Einmündung des Dotterreservoirs, das durch Vereinigung der beiden Hauptdottergänge zu stande kommt; er geht dann allmählich in den Uterus über.

Die Dotterfollikel, deren Ausführungsgänge den Längsmuskelschlauch durchsetzen, liegen in der Rindenschicht.

„Ce sont de petites vésicules, relativement peu nombreuses et peu serrées, disposées en quatre champs distincts, deux dorsaux et deux ventraux. Il reste donc un champ médian libre sur les côtés, dorsal et ventral, de même que sur les bords lateraux, gauche et droit“, alles, wie Fuhrmann schreibt.

Der Uterus ist ein langer, dünnwandiger, vielfach gewundener und verhältnismäßig dünner Schlauch, dessen Lumen (im Durchschnitt) meist nur einem Ei Platz gewährt. Er liegt größtenteils in einer Seite der Proglottis und zwar in der (Fig. 4 und 5), die der Vas deferens-Seite



gegenüber liegt. Diese wechselseitige Lagerung alterniert, wie bereits erwähnt, in den aufeinander folgenden Proglottiden unregelmäßig. Die Uterusöffnung liegt fast genau median, ventral und weist eine ovale Gestalt auf; ihre transversale Ausdehnung überwiegt die longitudinale. Der letzte Teil des Uterus steht gegenüber dem übrigen Uterus in scharfem Gegensatz; seine dicken Wände (Fig. 6) setzen sich aus kräftiger Ring- und Längsmuskulatur (letztere verläuft also in dorso-ventraler Richtung) zusammen. Dieser vom übrigen Uterus so abweichend gebaute letzte Teil besitzt eine sackförmige Gestalt und kommuniziert hinten oder seitlich, nie aber an seinem Innenende — das dem innersten Teil des Cirrusbeutels naheliegt (Fig. 6) — mit dem übrigen Uterus.

Die Eier sind von ovoider Gestalt und erreichen im Maximum  $47\ \mu$  Länge und  $38\ \mu$  Durchmesser. Was die Deckelung der Eier betrifft, wie sie Fuhrmann angibt, so konnte ich sie mit voller Sicherheit nicht konstatieren; doch schien sie mir vorhanden zu sein.

Aus den eben gegebenen Daten geht wohl zu Genüge hervor, daß *Ptychobothrium armatum* Fuhrmann mit *Polygonchobothrium polypteri* (Leydig) identisch ist. Die von mir untersuchten Exemplare stammen aus *Polypterus Endlicheri* Heckel, einem für den vorliegenden Cestoden neuen Wirt. Der betreffende Fisch wurde bei El Kawa (südlich von Duem, im Sudan) im Jänner 1904 im weißen Nil gefangen und von Herrn Dr. Kammerer nach Wien gebracht. Dank des freundlichen Entgegenkommens des Herrn Kustos Prof. Dr. E. v. Marenzeller war es mir möglich, damit die aus *Polypterus bichir* Geoffroy stammenden Exemplare des Wiener Hofmuseums zu vergleichen.

Fuhrmann beschrieb *Ptychobothrium armatum* nach einem aus dem Berliner Museum stammenden Material, das von Ehrenberg und Hemprich anfangs des vorigen Jahrhunderts bei Suckot in Nubien in „*Turdus parochus*“ gefunden wurde.

Bezüglich dieses Vogelnamens bemerkt Fuhrmann, daß er ihn im großen Katalog des Britischen Museums nicht finden konnte. Das wahrscheinlichste ist wohl, daß seinerzeit beim Etikettieren des betreffenden Fläschens ein Irrtum unterlaufen ist. Sollte dies aber nicht der Fall sein, jener Cestode also tatsächlich aus einer Drossel stammen, so würde dies vielleicht ein Fingerzeig dafür sein, daß der Zwischenwirt von *Polygonchobothrium polypteri* unter den Schnecken oder Würmern zu suchen ist, da ja die Turdiden im Gegensatz zu vielen anderen insektenfressenden Vögeln diesen sehr eifrig nachstellen, während andererseits *Polypterus* kaum sich regelmäßig von solchen Insekten nähren wird, die auch Landvögeln erreichbar sind.

Was die systematische Stellung anlangt, so ordnete Fuhrmann diesen Cestoden dem Genus *Ptychobothrium* Lönnberg ein, da er der so verschiedenen Skolexbildung gar keinen Wert beimißt; hierzu wurde er wohl durch die Annahme veranlaßt, daß bei zwei in Bezug auf den Proglottidenbau so verschiedenen Cestoden — *Polygonchobothrium polypteri*, für das er, wie eingangs erwähnt, marginale Genitalatria annimmt, einerseits, *Ptychobothrium armatum* mit flächenständigen Genitalatrien andererseits — durch Konvergenz Skolices von solcher Ähnlichkeit zu stande gekommen seien, daß man sie beinahe als identisch bezeichnen kann.

Dem *Bothriocephalus*-Skolex gegenüber zeigen die Skolices von *Polyonchobothrium* und *Ptychobothrium* Fortschritte, aber nach ganz verschiedenen Richtungen: bei ersterem werden die aus irgend welchen Gründen nicht genügenden Saugnäpfe durch Haken substituiert; der Skolex von *Ptychobothrium* erweist sich dagegen in Bezug auf die Ausbildung der Saugnäpfe — ähnlich wie *Duthieersia* Perrier — als exzessiv spezialisiert.

Aber auch in Bezug auf den Proglottidenbau erweisen sich die beiden genannten Genera als höherstehend denn *Bothriocephalus* Rud. Bei *Bothriocephalus* zerfällt der Uterus in Uteringang und Uterushöhle, bei *Polyonchobothrium* und *Ptychobothrium* fehlt eine Uterushöhle; dieser Mangel wird aber bei beiden durch die Länge des schlauchförmigen Uterus wieder wettgemacht.

Nun stellt aber die Erweiterung des Uterus zu einer Uterushöhle entschieden eine primitivere Art, den für die zu beherbergenden Eier nötigen Raum zu schaffen, dar, als die Ausbildung eines langen, vielfach gewundenen Schlauches, in dem sich nur selten 2 Eier nebeneinander finden; denn während im ersteren Falle die Eier in der weiten Uterushöhle unbedingt durcheinander kommen werden, hat der schlauchförmige Uterus den Vorteil, daß die Eier viel genauer in der Reihenfolge ihres Entstehens resp. des Befruchtetwerdens, die älteren zuerst, die jüngeren darauf, durch die muskulöse Uterusöffnung entlassen werden.

Daß die Uebereinstimmung der Genera *Polyonchobothrium* und *Ptychobothrium* im Bau des Uterus nicht Konvergenzerscheinungen sind, ist deshalb wahrscheinlich, weil die beiden Genera auch in anderer Beziehung, z. B. im Bau des Keimstockes, übereinstimmen. Daraus geht hervor, daß sich vom Genus *Bothriocephalus* Formen ablösten, welche im Bau der Proglottis diejenigen Eigentümlichkeiten erlangten, die *Polyonchobothrium* und *Ptychobothrium* gemeinsam sind, während sie den typischen *Bothriocephalus*-Skolex beibehielten. Von diesen hypothetischen, weil bisher nicht bekannt gewordenen Formen haben sich nun *Polyonchobothrium* und *Ptychobothrium* durch Spezialisierung des Skolex nach verschiedenen Richtungen entwickelt.

In gleicher Zeit haben sich dann wohl auch die Verschiedenheiten im Proglottidenbau bei beiden ausgebildet, wie die einseitige Lagerung des Uterus, die Anordnung der Dotterfollikel in vier getrennten Feldern bei *Polyonchobothrium*.

Es ist demnach die Definition des der Subfamilie *Ptychobothriinae* Lühe 1899 zuzuweisenden Genus *Polyonchobothrium* Diesing (1854) 1864 folgendermaßen zu emendieren:

Skolex langgestreckt, bewaffnet, mit zwei flächenständigen, längsgestreckten, seichten Saugnäpfen. Hals fehlt. Gliederung unvollkommen. Reife Glieder breiter als lang. Dotterfollikel in der Rindenschicht, fehlen in den medianen sowie in den seitlichsten Partien der Proglottis, so daß diese vier voneinander getrennte Dotterfelder, zwei ventrale und zwei dorsale, aufweist. Keimstock am Hinterrande der Proglottis, median in querer Richtung liegend und eine (in der Richtung der Proglottidenlängsachse) dünne Zellplatte bildend. Receptaculum seminis eine Erweiterung der Vagina, in die der Keimleiter mündet. Uterus ohne Uterushöhle, ein langer, vielfach gewundener Schlauch, der größtenteils

in einer Proglottidenseite gelegen ist, während auf der anderen das Vas deferens liegt. Genitalöffnungen median. Eier undeutlich gedeckelt (?).

#### Synonymie und Literatur.

- 1853 *Tetrabothrium polypteri* Leydig, Leydig, Ein neuer Bandwurm aus *Polypterus bichir*. (Troschels Arch. f. Naturgesch. Jahrg. XIX. Bd. I. p. 219.)  
 1854 *Onchobothrium (Polyonchobothrium) septicolle* Diesing, Diesing, K. M., Ueber eine naturgemäße Verteilung der Cephalocotyleen. (Sitzungsber. Akad. Wiss. Wien. Math.-naturw. Klasse. Bd. XIII. 1854. p. 586.)  
 1864 *Polyonchobothrium septicolle* Diesing, Derselbe, Revision der Cephalocotyleen. Abteilung: Paramecocotyleen. (Ebenda. Bd. XLVIII. 1. 1864. p. 263.)  
 1890 *Anchistrocephalus polypteri* Montic., *Anchistrocephalus macracanthus* Montic., *Bothriocephalus polypteri* Montic., Monticelli, Fr. Sav., Note elmintologiche. II. In-torno ad un Cestode del *Polypterus bichir*. (Boll. Soc. Naturalisti in Napoli. Ser. I. Vol. IV. Anno IV. 1890. p. 199.)  
 1896 „*Bothriocephalus macracanthus* Montic.“, Riggenbach, E., Bemerkungen über das Genus *Bothriotaenia* Railliet. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XX. 1896. p. 222.)  
 1899 *Bothriocephalus polypteri* (Leydig), Lühe, M., Zur Anatomie und Systematik der Bothriocephaliden. (Verh. d. Deutsch. Zool. Gesellsch. 1899. p. 37.)  
 1900 *Polyonchobothrium polypteri* (Leydig), Lühe, M., Untersuchungen über die Bothriocephaliden mit marginalen Genitalöffnungen. (Zeitschr. f. wissensch. Zool. Bd. LXVIII. 1900. p. 43.)  
 1902 *Ptychobothrium armatum* Fuhrmann, Fuhrmann, O., Sur un nouveau bothriocéphalide d'oiseau (*Ptychobothrium armatum*). (Archives de Parasitologie. T. V. Paris 1902. No. 3. p. 440.)  
 1902 *Polyonchobothrium polypteri*, Stiles, Ch. W. and Hassal, A. I., Notes on parasites 61. The type species of *Anchistrocephalus*. (U. St. Depart. Agric. Bureau of Anim. Industry, Bull. 35. Washington.)

Nachdruck verboten.

### Bemerkungen zu dem Aufsatz Citrons: „Ueber natürliche und künstliche Aggressive“.

[Aus dem Hygienischen Institut der Deutschen Universität in Prag.  
Vorstand: Prof. Hueppe.]

Von Prof. Dr. Oskar Ball und Dr. Edmund Weil, Assistenten des Institutes.

Dem im Titel angeführten Aufsatz Citrons in No. 2 dieses Blattes mögen sofort einige Bemerkungen zugefügt werden, da derselbe den bisherigen Stand der Diskussion über die Bakterienaggressivität vollständig verschiebt. Im ersten Artikel von Wassermann und Citron<sup>1)</sup> waren die Aggressive „keine neuen Körper“, sondern „einfach gelöste Bakterien-substanzen, deren immunisierende Wirkung uns seit langem bekannt ist“. Gegen diese Identifizierung der aggressiven Bakterienwirkung mit der von gewöhnlichen Bakterienextrakten richteten sich unsere bisherigen Ausführungen. Jetzt ist nach Citron die „Natur dieser Substanzen völlig dunkel“, was doch nur heißen kann, daß die von uns zuerst studierte Bakterienaggressivität tatsächlich eine neue, bisher beim Studium der Infektion und Immunität nicht beachtete Eigenschaft ist. Dazu kommt weiter, daß der morphologische Bau und die chemische Zusammensetzung, Dinge also, die mit der Lebenseigentümlichkeit der Bakterien zusammenhängen müssen, von Entscheidung für die Gewinnung

1) Deutsche mediz. Wochenschr. 1905. No. 28.

„künstlicher Aggressine“ sein sollen, ja, daß sich solche „nur aus lebenden Bakterien extrahieren lassen“. Das muß doch für jeden, der es vorurteilslos liest, heißen, daß die Aggressivität aufs engste mit dem Leben der Bakterien zusammenhängt, was für die einfachen Leibesbestandteile, von denen früher allein die Rede war, nicht gut ausgesagt werden kann. Dies empfindet Citron so sehr, daß er die gewöhnlichen Leibessubstanzen, die wie die agglutinable bei gewissen Bakterien (Meningokokken) mit in Extrakten übergehen, als Schwierigkeit für Versuche bezeichnet wird. Wenn es Citron (und Wassermann) „nun darauf ankam“, zu zeigen, daß es sich bei den Aggressinen nicht um eine im Kampfe mit dem Organismus neugebildete, sondern um vorgebildete Substanzen handelt, die . . . auch in vitro in die umgebende Flüssigkeit hineingelangen können“, so ist schon wiederholt ausdrücklich betont worden, daß niemals und nirgendwo von uns behauptet wurde, daß nur im Tiere Aggressine abgegeben werden können<sup>1)</sup>, daß ein Streit darüber, ob Sekretionsprodukt oder Leibesbestandteil müßig sei<sup>2)</sup>, man nur nicht das, was man bisher gewöhnlich als Leibesteil bezeichnete, mit Aggressinen identifiziert wird, daß schließlich selbst eine Abgabe von Aggressin im Schüttelapparate dann zugegeben werden kann, wenn die Aggressivität an eine vorgebildete Substanz gebunden ist<sup>3)</sup>. Aber aus der bisherigen Diskussion konnte immer nur entnommen werden, daß von Wassermann und Citron gewöhnliche Bakterienextrakte gemeint seien. Ist jetzt von den genannten Herren Verfassern in solcher, eine ihrer Natur nach völlig dunkle Substanz erkannt, welche neben sonstigen „Stoffen“ die Aggressivität bedingt, so ist damit auch das Aggressin, mag es auf welche Weise immer gewonnen sein, als etwas Neues anerkannt, auf dessen Bedeutung Wassermann und Citron selbst eindringlich hingewiesen haben<sup>4)</sup>.

Damit ist aber der Standpunkt der weiteren Diskussion vollständig verschoben worden. Nicht um die Anerkennung der Aggressivität handelt es sich mehr, sondern um die, nach dem oben Gesagten mehr technisch als prinzipiell wichtige Frage ihrer leichtesten und besten Gewinnung und die nach dem Wesen ihrer Wirkung. Wir weichen auch dieser Diskussion nicht aus und werden in nächster Zeit den Nachweis neuerlich erbringen, daß von einer Bindung bakterizider Kräfte nicht die Rede sein kann. Allerdings ist bei Citron der Begriff der bakteriziden Kräfte wieder so schwankend geworden, daß er schwer anzufassen ist. Er rechnet die Leukocyten auch dazu (was bisher bei strenger Observanz doch nicht so ganz gewöhnlich war) und verleiht der Aggressinimmunität zwar im Prinzip den Charakter einer bakteriziden, bezweifelt aber, ob man sie wirklich als bakterizid bezeichnen dürfe. Dabei geht Citron auf den von uns bereits mehrfach geführten Nachweis, überhaupt nicht ein, daß natürliche Aggressine die Bakteriolyse, dort, wo sie der Sachlage nach möglich ist, nicht behindern und daß sie oft, wahrscheinlich bei geeigneter Versuchsanordnung immer, selbst Komplement, für Hämolytise und Bakteriolyse enthalten. Gerade die Methode, die Citron als einzig neuen Punkt in der Diskussion anführt, die Hämolysebehinderung durch Bakterienteilchen, wird durch Wassermann

1) Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 39 u. 40. p. 5. der S.-A. dieses Centralblattes. Abt. I. Bd. XL. No. 3. p. 372.

2) Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 39 u. 40. p. des S.-A.

3) Dieses Centralbl. Abt. I. Bd. XLI. No. 1.

4) Deutsche med. Wochenschr. 1905. p. 1102.

und seine Mitarbeiter selbst geliefert, das schärfste Argument gegen die Ansicht Citrons bilden. Uebrigens kann niemand die Position des Herrn Verfassers so sehr schwächen, als er es selbst tut. Er weist durch Hämolysebehinderung im Aggressin „freie Rezeptoren“, im Antiaggressin „Ambozeptoren“ nach, wenige Seiten nachher aber bedauert er, daß bei Extraktion (und die natürlichen Aggressine sollen ja auch durch Extraktion entstehen) von Bakterien außer der wirksamen aggressiven, ihrer Natur nach „völlig dunklen“ Substanz, noch andere Stoffe in Lösung gehen. Die Richtigkeit dieser Methode vorläufig zugestanden, wird Citron wohl niemandem widerlegen können, der behauptet, die „freien Rezeptoren“ seien diese nebensächlichen, nicht aggressiven Leibessubstanzen und die Ambozeptoren im Antiaggressinserum seien durch Vorbehandlung mit diesen veranlaßt, das eigentliche Aggressin und Antiaggressin sei aber daneben voll vorhanden. — Wir versprechen übrigens, von dieser Schwäche der Stellung Citrons nur einen mäßigen Gebrauch machen zu wollen, werden uns aber nicht enthalten können, auf einige andere Punkte seiner Ausführungen näher einzugehen, so z. B. auf die sehr merkwürdige Erscheinung, daß die künstliche Extraktion von Bakterien in vitro einmal mehr (Diphtherie) oder dasselbe bietet (Schweineseuche), wie die natürliche in vivo, ein andermal aber und zwar bei recht nahestehenden Mikroorganismen (Hühnercholera) wieder so viel weniger.

Gegen den Schlußpassus der Arbeit Citrons muß entschieden Protest eingelegt werden. Abgesehen davon, daß wir bisher noch nicht zugeben können, daß die Immunisation durch künstliche Aggressine mit der durch natürliche, geschweige mit der durch lebende Bakterien identisch ist, ist erst in der zitierten Arbeit von Citron die Rede von der Notwendigkeit der Verwendung lebender Bakterien, nachdem der eine von uns in Polemik gegen Wassermann und Citron<sup>1)</sup> ausführlich auf das Gebundensein der Aggressivität an die Vitalität hingewiesen hat. Gerade das schreibt sich jetzt Citron mit Wassermann zu, was zur Aufstellung der Aggressinlehre geführt hat, das Bestreben, die Wechselwirkung des lebenden Bacillus auf den lebenden Organismus in den Bereich der Untersuchung zu ziehen. Der Nachweis, daß „die allein echte Immunität auslösende Substanz nicht an den Bakterienleib gebunden ist“, ist in gar keiner Weise von Wassermann und Citron geführt worden, sondern er bildet die Grundlage der Aggressintheorie, welche diese wirksamen Stoffe im Tiere gesucht und gefunden hat. Nur so war es möglich, überhaupt eine Erklärung für die Immunisierung mit lebenden Bakterien zu geben, wie am Beispiele der Pasteurschen Milzbrandimmunität<sup>2)</sup> gezeigt wurde. „Es kann nicht deutlich genug darauf hingewiesen werden, daß bisher für Wassermann und Citron das Aggressin nur ein gewöhnliches Bakterienextrakt war und daß erst neuerlich Citron, indem er diesen Ausspruch wiederholt, sich mit seinen sonstigen Angaben in absoluten Widerspruch setzt oder jetzt den Begriff des Bakterienextraktes in anderer Weise als bisher auffaßt. Wir werden diesen Wechsel der Anschauungen noch genauer beleuchten müssen.

1) Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 39 u. 40.

2) Archiv für Hygiene. Bd. LII.

Nachdruck verboten.

# Weitere Untersuchungen über den Mechanismus der Agglutination und Präzipitation.

## II. Teil.

[Aus dem k. k. hygienischen Institut der Jagellonischen Universität Krakau.  
Vorstand Prof. O. Bujwid.]

Von Dr. Philipp Eisenberg, Assistenten am Institut.

(Fortsetzung.)

Aus diesen Versuchen ist ersichtlich, daß, je länger das inaktivierte Serum auf die Bakterien einwirkt, desto größer der Hemmungseffekt, d. h. desto größer ist die Menge aktiven Serums, die Agglutination zu stande bringt. In analoger Weise ist beim vorherigen Zusatz des aktiven Serums um so leichter Hemmung zu erzielen, je früher man den nachträglichen Zusatz des inaktivierten Serums vornimmt (s. Tab. XLI und XLII und XLIII).

Aus diesen Versuchen folgt zweifellos, daß die Agglutination ein reversibler Prozeß ist, da es gelingt, die Agglutination auch bei vorheriger Einwirkung des aktiven Agglutinins auf die Bakterien zu hemmen, wobei, wie wir wissen, das Agglutinin in kürzester Zeit von den Bakterien fixiert wird. Für die Reversibilität der Reaktion haben mit gewisser

Tabelle XLI. (Prot. No. 207a. 28. März 1905.)

Ser. Pf. No. 11. 1904. Ser. v. Pf. No. 37. 30. Oktbr. 1903 1 Std. auf 70–72° erh. (Verd.  $\frac{1}{2}$ ). Agarauflschw. v. B. typhi Z. dicht. Jede Probe enthält: Aktiv. Ser. Tr. 1 =  $\frac{1}{40000}$ , B.-Aufsch. Tr. 1, Phys. NaCl 18 Tr. Nach 5, 10, 15, 30 Min. wird erh. Serum und phys. NaCl zur Ergänzung auf 40 Tropfen zugesetzt. Resultat nach 24 Std.

Tropfen	Das erh. Serum zugesetzt nach			
	5 Min.	10 Min.	15 Min.	30 Min.
3 = $\frac{1}{840}$	u. v.?	u. v.	u. v.	u. v. +
12 = $\frac{1}{160}$	st. Sp.	st. Sp.	u. v.?	u. v.
3 = $\frac{1}{40}$	k.	Sp.	Sp.	Sp.
12 = $\frac{1}{10}$	k.	k.	k.	k.
20 = $\frac{1}{6}$	k.	k.	k.	k.
0	u. v. +	—	—	—

Tabelle XLII. (Prot. No. 212a. 5. April 1905.)

Sera und Bakterien wie in Tab. XLI. Dieselbe Versuchsanordnung, nur wird vom aktiven Serum 1 Tr. =  $\frac{1}{3560}$  zugesetzt. Resultat nach 24 u. 48 Std.

Das erh. Ser. zugesetzt nach	Erhitztes Serum Tr.									
	1 = $\frac{1}{120}$		2 = $\frac{1}{60}$		4 = $\frac{1}{30}$		8 = $\frac{1}{15}$		0	
5 Min.	u. v.	u. v.	st. Sp.	u. v.?	k.	Sp.?	k.	k.	f. v.	f. v.
10 „	u. v.	u. v. +	st. Sp.	u. v.?	Sp.?	Sp.	k.	Sp.?	—	—
15 „	u. v.	u. v. +	st. Sp.	u. v.	Sp.?	Sp.	k.	Sp.?	—	—
30 „	u. v.	u. v. +	u. v.?	u. v.	Sp. +	st. Sp.	k.	Sp.?	—	—
1 Std.	u. v. +	f. v.	u. v.?	u. v.	Sp.	st. Sp.	k.	Sp.?	—	—
2 „	f. v.	f. v.	u. v.	u. v. +	st. Sp.	u. v.	Sp.	Sp.	—	—
3 „	f. v.	f. v.	u. v.	u. v. +	u. v.	u. v. +	st. Sp.	u. v. +	—	—

Tabelle XLIII. (Prot. No. 215. 9. April 1905.)

Ruhrserum a. d. Lab. L. W. Gans. 2 Std. auf 60–61° C erh. — Ruhrserum v. Pf. No. 2.  $\frac{1}{64}$  nicht erh. — Dichte Agar aufschw. v. B. dysenteriae Nepustil. — Akt. Ser. 1 =  $\frac{1}{1380}$  + Bakt. Aufschw. Tr. 1 + phys. NaCl 18 Tr., sodann verschiedene Verdünnungen des inakt. Ser. und phys. NaCl zur Ergänzung auf 40 Tr.

Tropfen Inaktiv. Ser.	Das inaktiv. Ser. zugesetzt nach					
	0 Min.	10 Min.	30 Min.	1 Std.	2 Std.	9 Std.
1 = $\frac{1}{640}$	u. v.	u. v.	u. v. +	u. v. +	f. v.	f. v.
2 = $\frac{1}{320}$	Sp.?	Sp.	Sp.	st. Sp.	st. Sp.	u. v.
4 = $\frac{1}{160}$	k.	k.	k.	Sp.?	Sp.	st. Sp.
8 = $\frac{1}{80}$	k.	k.	k.	k.	Sp.	st. Sp.
16 = $\frac{1}{40}$	k.	k.	k.	k.	Sp.	Sp.
0	f. v.	—	—	—	—	—

Tabelle XLIV. (Prot. No. 232. 26. April 1905.)

Ser. v. Pf. No. 37 1904. — Dasselbe  $\frac{1}{1}$  Std. auf 60–62° C erh. (inaktiv laut Kontrolle). Obere sterile Flüssigkeit einer 18 Monate alten Bouillonkultur v. B. typhi Z. Die Flüssigkeit wird mit aktivem Serum zusammengebracht, nach 5 Min., 1 u. 2 Std. wird das inaktive zugesetzt. Nach 5 Min. ist der Inhalt der Röhrchen klar, nach 1 Std. opalisierend, nach 2 Std. ist drin ein flockiger Niederschlag suspendiert, Resultat nach 2, 24 u. 48 Std.

Tropfen				Das erhitzte Serum zugesetzt nach							
Aktiv. Ser.	Phys. NaCl	Ob. Flüss.	Erh. Ser.	5 Min.				1 Std.		2 Std.	
1 = $\frac{1}{80}$	24	5	10 = $\frac{1}{4}$	k.	k.	k.	k.	Sp. N.	Sp. N.	schw. N.	schw. N.
1 = $\frac{1}{80}$	30	5	4 = $\frac{1}{10}$	k.	k.	k.	k.	schw. N.	schw. N.	schw. N.	Nied.
1 = $\frac{1}{80}$	32	5	2 = $\frac{1}{20}$	k.	k.	Sp.?	schw. N.	Nied.	Nied.	Nied.	Nied.
1 = $\frac{1}{80}$	33	5	1 = $\frac{1}{40}$	k.	k.	Sp.	schw. N.	Nied.	Nied.	Nied.	Nied.
1 = $\frac{1}{80}$	34	5	0	Nied.	Nied.	Nied.	—	—	—	—	—
0	35	5	0	k.	k.	k.	—	—	—	—	—

Kontrolle: Erh. Ser. + Ob. Flüss., nach 72 Std. aktiv. Ser.

Tropfen				Resultat nach		
Erhitzt. Ser.	Phys. NaCl	Ob. Flüss.	Aktiv. Ser.	2 Std.	24 Std.	48 Std.
10 = $\frac{1}{4}$	25	5	10 = $\frac{1}{5}$	k.	k.	k.
4 = $\frac{1}{10}$	31	5	10 = $\frac{1}{5}$	k.	k.	k.
2 = $\frac{1}{20}$	33	5	10 = $\frac{1}{5}$	Opal.	Sp. Nied.	schw. N.
1 = $\frac{1}{40}$	34	5	10 = $\frac{1}{5}$	Nied.	Nied.	Nied.
0	35	5	10 = $\frac{1}{5}$	Nied.	Nied.	Nied.

Nach 72, 96, 120 Std. das Resultat unverändert.

Zeichenerklärung: N. = Nied. = Niederschlag, Sp. = Spur, schw. = schwach. Opal. = Opaleszenz.

Wahrscheinlichkeit schon die Ergebnisse der quantitativen Bindungsversuche von Eisenberg und Volk gesprochen. Direktere Beweise dafür lieferten einerseits die Versuche von Joos, welcher zeigte, daß wenn man zu agglutinierten Bakterien frische hinzusetzt, auch diese agglutiniert werden, daß also das Agglutinin von den einen auf die anderen hinüberwandert, andererseits die Versuche von Landsteiner und Jagić, sowie Landsteiner und Reich, welche die Dissoziation der Bakterien-Agglutininverbindung bei höherer Temperatur nachweisen. Meine Versuche zeigen jedoch in Uebereinstimmung mit den von Landsteiner und Reich auf dem Wege der Dissoziation gewonnenen

Resultaten, daß diese Reversibilität keine vollkommene ist und daß sie vor allem vom Zeitfaktor abhängig ist. Aus den Versuchen, in denen zuerst das aktive Serum eingewirkt hat und zuweilen schon Flockenbildung vor Zusatz des inaktiven Serums eintritt, könnte man annehmen, daß der Akt der Agglutination an sich, d. h., das Ausfallen eines unlöslichen Niederschlags, die Ursache für die unvollkommene Reversibilität bildet. Diese Deutung kann jedoch keine Anwendung finden auf die Versuche, in denen zuerst das inaktive Serum einwirkt, wobei kein Niederschlag entsteht. Man wird also hier ebenso wie in der verwandten Frage der Reversibilität der Toxin-Antitoxinverbindung zu der Annahme geführt, daß mit dem Ablauf der Zeit die Verbindung eine Festigung erfährt, die der Reversibilität entgegenwirkt und vielleicht zuletzt die Zerlegung der Verbindung in ihre Komponenten überhaupt unmöglich macht. Natürlich kann in manchen Fällen die Unlöslichkeit der Verbindung eine nicht zu vernachlässigende Rolle spielen, wie das speziell bei den Präzipitinen der Fall zu sein scheint.

Auf die Reversibilität der Präzipitation und Koagulation habe ich schon in früheren Arbeiten aufmerksam gemacht, daselbst habe ich auch festgestellt, daß die Reihenfolge der Zusätze von aktivem und inaktivem Serum für den Hemmungserfolg ausschlaggebend sein kann. In meinen neueren Versuchen hat es sich zunächst gezeigt, daß es hier ebenso wie bei der Agglutination gelingt, Hemmung zu erzielen, selbst wenn zunächst das aktive Serum und dann erst das inaktivierte mit dem fällbaren Körper zusammengebracht wird, sodann, daß so wie dort die quantitativen Verhältnisse und der die Zusätze trennende Zeitraum den Hemmungseffekt bestimmen (Tab. XLIV, XLV).

In den beiden letzten Versuchsreihen fällt es auf, daß dort, wo im Moment des nachträglichen Zusatzes von inaktiviertem Serum bereits eine Trübung oder ein Niederschlag zu sehen ist, keine Hemmung eintritt (die Reihen nach 1 und 2 Std. in Tab. XLIV). Besonders auffallend ist dieses Verhalten in der vierten Reihe (Tab. XLV), wo es sogar scheinbar der anderorts festgestellten Regel zuwiderläuft, daß, je größer der Zusatz des inaktivierten Serums, desto größer die Hemmung. Dem entgegen ist hier gerade in der Reihe mit größten Zusätzen die Hemmung geringer als in den anderen Reihen. Es rührt dies daher, daß infolge der quantitativen Versuchsbedingungen in dieser Reihe aktives Serum und Flüssigkeit in konzentriertem Zustande zusammengebracht wurden (1 Tropfen + 1 Tropfen) und schon nach 5 Min. eine starke Trübung erschien, die nicht einmal durch größere Mengen des inaktivierten Serums zum Verschwinden gebracht werden konnte. Dieses Verhalten scheint dafür zu sprechen, daß, wie schon oben erwähnt, in der Reversibilität der Reaktion die Entstehung eines unlöslichen Niederschlags eine gewisse, vielleicht sogar wichtige Rolle spielt (Nernst, Biltz, Landsteiner). Zu ähnlichen Schlüssen betreffs der Reversibilität der Präzipitation ist seinerzeit v. Dungern auf Grund von Dissociationsversuchen gekommen.

Außer diesem Weg für Erforschung der Reversibilität gab es aber noch einen anderen — durch Zusatz eines Ueberschusses von präzipitabler Substanz. Aus den Arbeiten von Halban und Landsteiner, mir, Rostoski, Michaëlis ist bekannt, daß ein solcher Ueberschuß die Präzipitation hemmen kann. Es entsteht nun die Frage, ob es für den Hemmungseffekt irrelevant sein dürfte, wenn dieser Ueberschuß nicht auf einmal, sondern in einigen Portionen zugesetzt wird. Bei einer derartigen Versuchsanordnung wirkt das Präzipitin zunächst auf



Tabelle XLV. (Prot. No.

Ser. Kan. 3. d. immunisiert mit Menschenserum v. 29. Jan. 1904. — Dasselbe 1 Std. sodann nach 0, 5, 15, 30 Min., 1, 2 Std. inaktiv. Ser. zugesetzt. In den Proben der zu sehen, in den anderen kaum sichtbare Opaleszenz.

Tropfen				Inaktives			
Aktiv. Ser.	Phys. NaCl	Asc. Flüss.	Inakt. Ser.	0 Min.		5 Min.	
1 = $\frac{1}{40}$	33	1	5 = $\frac{1}{40}$	k.	k.	k.	k.
1 = $\frac{1}{40}$	28	1	10 = $\frac{1}{20}$	k.	k.	k.	k.
1 = $\frac{1}{40}$	18	1	20 = $\frac{1}{10}$	k.	k.	k.	k.
(*) 1 = $\frac{1}{40}$	0	1	38 = $\frac{1}{5}$	k.	k.	schw. N.	Nied.
3 = $\frac{3}{40}$	31	1	5 = $\frac{1}{40}$	k.	k.	Nied.	Nied.
3 = $\frac{3}{40}$	21	1	15 = $\frac{3}{40}$	k.	k.	schw. N.	Nied.
3 = $\frac{3}{40}$	6	1	30 = $\frac{3}{20}$	k.	k.	Sp. +	schw. N.
1 = $\frac{1}{40}$	38	1	0	Nied.	Nied.	—	—
3 = $\frac{3}{40}$	36	1	0	Nied.	Nied.	—	—
0	39	1	0	k.	k.	—	—

Tabelle XLVI. (Prot.

Ser. v. Pf. No. 33 (immunisiert mit Streptokokkenkulturen in

Tropfen				Der zweite					
Ser.	Phys. NaCl	Asc. I	Asc. II	0 Min.			15 Min.		
4 = $\frac{1}{10}$	26	2	8	k.	k.	k.	k.	k.	Sp.
"	16	2	18	k.	k.	k.	k.	k.	Sp.
"	0	2	34	k.	k.	k.	Nied.	Nied.	Nied.
4 = $\frac{1}{10}$	34	2	0	Nied.	Nied.	Nied.	—	—	—

Resultat nach 2 Std. (50° C) 24 Std. (Z.T.)

Tabelle XLVII. (Prot.

Serum und Flüss. wie in Tab. XLVI.

Tropfen				Der zweite					
Ser.	Phys. NaCl	Asc. I	Asc. II	0 Min.			7,5 Min.		
2 = $\frac{1}{20}$	28	1	9	k.	k.	k.	k.	k.	k.
2 = $\frac{1}{20}$	8	1	29	k.	k.	k.	k.	k.	k.
2 = $\frac{1}{20}$	0	1	37	k.	k.	k.	Fl.	N.	N.
2 = $\frac{1}{20}$	37	1	0	Nied.	Nied.	Nied.	—	—	—
0	39	1	0	k.	k.	k.	—	—	—

Nach 96—120

eine Eiweißmenge, mit der es unter gewöhnlichen Umständen einen Niederschlag gibt. Ist nun die Reaktion vollkommen reversibel, so müßte die Hemmung bei fraktioniertem Zusatz ebenso eintreten, wie bei einmaligem. Ist sie dagegen nur unvollkommen reversibel, so wird ein Teil des entstandenen Niederschlags sich trotz Zusatz der weiteren Fraktionen erhalten resp. ein Teil des zu erwartenden tatsächlich ausfallen. Der in Tab. XLVI dargestellte Versuch bestätigt diese zweite Annahme und zeigt wieder, wie die früheren Versuche, daß die Reversibilität mit der Zeit zurückgeht.

So bestätigt also dieses Resultat die früher dargestellten; warum Michaëlis in Versuchen, die er beim Niederschreiben dieser Zeilen gerade publiziert, bei fraktioniertem Zusatz dieselben Hemmungsergebnisse bekommt, wie bei einmaligen, weiß ich nicht zu erklären. Ich möchte nur bemerken, daß der Zeitfaktor in diesen Versuchen eine große Rolle

216, 216a. 3. April 1905.)

auf 72° C erh. (verd.  $\frac{1}{4}$ ) — menschl. Ascitesflüss. 24. Dez. 1904. Akt. Ser. + Flüss., vierten Reihe (\*) ist schon vor Zusatz des inakt. Ser. nach 5 Min. eine starke Trübung Resultat nach 42 u. 48 Std. Nach 72 Std. unverändert.

Serum zugesetzt nach

15 Min.		30 Min.		1 Std.		2 Std.	
Sp.?	Sp.	Sp.	Sp. +	schw. N.	Nied.	Nied.	Nied.
Sp.?	Sp.?	Sp.?	Sp.	Sp. +	schw. N.	Nied.	Nied.
Sp.?	Sp.?	Sp.?	Sp.	Sp.	Sp. +	schw. N.	schw. N.
schw. N.	Nied.	schw. N.	Nied.	schw. N.	Nied.	Nied.	Nied.
Nied.	Nied.	—	—	Nied.	Nied.	—	—
Nied.	Nied.	—	—	Nied.	Nied.	—	—
Nied.	Nied.	—	—	Nied.	Nied.	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—

No. 233. 28. März 1905.)

Ascitesbouillon). — Menschliche Ascitesflüssigkeit 24. Dez. 1904.

Zusatz von Ascites nach

30 Min.			1 Std.			2 Std.		
k.	k.	Sp.	Fl.	Sp.	schw. N.	Nied.	Nied.	Nied.
st. Fl.	schw. N.	schw. N.	Nied.	Nied.	Nied.	Nied.	Nied.	Nied.
Nied.	Nied.	Nied.	Nied.	Nied.	Nied.	Nied.	Nied.	Nied.
—	—	—	—	—	—	—	—	—

48 Std. (Z. T.). Nach 72 Std. unverändert!

No. 233a. 28. April 1905.)

Resultat nach 4, 24 u. 48 Std.

Zusatz von Ascitesfl. nach

15 Min.			30 Min.			1 Std.			2 Std.		
k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	Sp.?	k.	Sp.	schw. N.
k.	k.	k.	k.	Sp.?	schw. N.	Fl.	schw. N.	N.	st. Fl.	N.	N.
Fl.	N.	N.	Fl.	N.	N.	st. Fl.	N.	N.	N.	N.	N.
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Std. unverändert!

spielt; wenn man in Tab. XLVI nur die zwei ersten Proben mit Zusatz nach 15 Min. anstellen wollte und dabei nur die Resultate nach 24 Std. berücksichtigen würde, käme man wohl zu demselben Schluß. Man muß also in diesen Versuchen, wie überhaupt in allen, die den Mechanismus dieser Reaktionen zum Gegenstand haben, die quantitativen Verhältnisse sowie die Beobachtungszeit eingehender beachten, wenn man zu exakten Resultaten gelangen will.

Eine völlige Bestätigung des in Tab. XLVI ersichtlichen Resultats gibt ein und denselben Körpern nur in anderen quantitativen Verhältnissen angestellter Versuch (Tab. XLVII).

In diesem Versuch, wie im vorhergehenden, begegnen wir wieder der paradoxen Erscheinung, daß in der zweiten Reihe die Hemmung geringer ausfällt, als in der ersten und in der dritten am geringsten. Ob das nun auf den wachsenden Ueberschuß an präzipitabler Substanz

(das würde unseren heutigen Anschauungen über diese Hemmung widersprechen) zurückzuführen ist oder darauf, daß vor Zusatz dieses Ueberschusses die beiden Körper hier in größerer aktiver Masse (bei gleichbleibender absoluter Menge) aufeinander einwirken, kann ich nicht entscheiden.

Endlich wird es hier wohl am Platze sein, einige orientierende Versuche über die Reversibilität einiger besser bekannter Niederschlagsreaktionen der Eiweißkörper anzuführen. Die Untersuchungen der letzten Jahre weisen immer nachdrücklicher darauf hin, daß alle spezifischen Reaktionen, mit denen die Immunitätslehre sich befaßt, in nahem Zusammenhang stehen mit Zustandsänderungen und Absorptionsvorgängen an kolloidalen Substanzen, so daß diese mit Erfolg zur Erklärung jener herangezogen werden und in manchen Fällen auf Grund von Analogieen jenen Forschungen neue Wege vorzeichnen können. Daher wird es auch immer für beide Seiten vorteilhaft sein, die auf einem Gebiet erlangten Kenntnisse auf dem anderen zu bestätigen, wie ich seinerzeit in meiner Präzipitinarbeit schon versucht habe. In folgenden Versuchen wollte ich nun eine Bestätigung der soeben dargestellten Facta betreffs der Reversibilität der Präzipitation erlangen, indem ich die Wirkung einiger bekannter eiweißfällender Reagentien untersuchte. Auch hier bleibt meistens bei Ueberschuß von Eiweiß der Niederschlag aus; es kam nun darauf an, zu erfahren, ob das Resultat bei fraktioniertem Zusatz dieses Ueberschusses sich ändern würde. Der Versuch bestätigt diese Annahme, wie aus Tab. XLVIII—LII hervorgeht, und bekräftigt damit auch die früher erhaltenen Resultate.

Tabelle XLVIII. (Prot. No. 292. 19. Juni 1905.)

Alcohol. abs. Pferdeserum.	
[Alc. abs. 1,0 + Pf.-S. 0,2] + Pf.-S. 2,8	
nach 0 Min.	— kein Nied., Trübung
15	} — starker Nied., Trübung
2 Std.	
18	
Kontr. [Alc. abs. 1,0 + Pf.-S. 0,2] + physiol. NaCl 2,8	
nach 18 Std.	— sehr starker Nied.

Tabelle XLIX. (Prot. No. 292. 19. Juni 1905.)

HgCl<sub>2</sub> 2-proz. Lös. (unter NaCl-Zusatz). Menschliche Ascitesflüssigkeit. HgCl<sub>2</sub> + Flüss., sodann nach verschiedener Zeit erneuerter Zusatz von Flüss. Die Höhe des Bodensatzes an der Höhe des Satzes in der Kontrollprobe gemessen (ohne neuerlichen Zusatz).

[HgCl <sub>2</sub> 0,2 + Flüss. 4,0] + Flüss. 4,8	
nach 0 Min.	— kein Nied.
2 "	— schwach. Nied. ( $\frac{1}{20}$ der Kontr.)
20 "	— " " " $\frac{1}{20}$ " "
2 Std.	— " " " $\frac{1}{20}$ " "
24 "	— Nied. ( $\frac{1}{2}$ — $\frac{1}{3}$ der Kontr.) "
Kontr. [HgCl <sub>2</sub> 0,2 + Flüss. 4,0] + phys. NaCl 4,8	
nach 24 Std.	— starker Nied.

Tabelle L. (Prot. No. 293a. 18. Juni 1905.)

Wässer. 2%<sub>00</sub> Vesuvinlös. Menschl. Ascitesflüssigkeit.

[Ves. 1,0 + Flüss. 0,5] + Flüss. 2,5.	
nach 0 Min.	— kein Nied.
5 "	} ein immer reichlicherer Niederschlag, darüber die obere Flüss. immer stärker entfärbt durch die Absorption des Vesuvins durch den Niederschlag
15 "	
1 Std.	
12 "	}
Kontr. [Ves. 1,0 + Flüss. 0,5] + phys. NaCl 2,5	
nach 12 Std.	— starker Nied., starke Entfärbung der oberen Flüss.

Tabelle LI. (Prot. No. 293a. 18. Juni 1905.)

Halbgesättigte wässrige Lös. von Pikrinsäure. Menschl. Ascitesflüssigkeit

[Pikr.-S. 1,0 + Flüss. 0,5] + Flüss. 2,5

nach 0 Min. — kein Nied.

5	"	} Nied., Opaleszenz
15	"	
1 Std.	"	

12 " starker Nied., starke Opal.

Kontr. [Pikr.-S. 1,0 + Flüss. 0,5] + Phys. NaCl 2,5

nach 12 Std. starker Nied., starke Opal.

Tabelle LII. (Prot. No. 296. 27. Juni 1905.)

Wässer. Vesuvinlös. 5‰. Menschl. Ascitesflüssigkeit.

Vesuvin cm	Asc. cm		Asc. cm	Phys. NaCl cm	Resultat nach 24 Std.
1	5		0	0	Sp. Nied.
1	1	Nach 2 Std. zugesetzt	4	0	In beiden Reihen ein Nied. in fallender Menge, die ob. Flüssigkeit immer dunkler gefärbt; in der ersten Reihe ist der Nied. geringer und die ob. Flüss. dunkler gefärbt als in den entsprechenden Kontrollröhrchen der zweiten Reihe
1	2		3	0	
1	3		2	0	
1	4		1	0	
1	1		0	4	
1	2		0	3	
1	3		0	2	
1	4		0	1	

Nach diesen Ausführungen über die Reversibilität der Agglutination, Präzipitation und Koagulation, die in der Wichtigkeit dieser Frage für die Immunitätslehre im allgemeinen und für die Theorie der Toxin-Antitoxinverbindungen im besonderen ihre Entschuldigung finden mögen, wollen wir wieder zur Frage der Proagglutinoidhemmung zurückkehren. Außer der Zeit sind es auch die quantitativen Verhältnisse, die auf die Hemmung einen entscheidenden Einfluß haben. Eisenberg und Volk haben zuerst auf die Bedeutung der Bakterienmenge bei der Untersuchung von Hemmungszonen hingewiesen. Shiga hat sie an Ruhrseris, ich an Präzipitin- und Kraus und v. Pirquet an Koagulin-Seris bestätigt. Auch in meinen neueren Versuchen habe ich, wie zu er-

Tabelle LIII. (Prot. No. 219. 15. April 1905.)

Ruhrserum a. d. Labor. L. W. Gans. 1½ Std. auf 6–62° C erh. Ruhrserum v. Pf. No. 2 1904 nicht erhitzt. Dichte Agaraufschw. v. B. dysenteriae St. Nepustil. Erh. Ser. Tr. 4 = 1/60 + akt. Ser. verschiedene Verd. + B.-Aufschw. + physiol. NaCl zur Ergänzung auf 40 Tr. Gesamtvolumen. Resultat nach 2 Std. (50°) — 4 Std. (50°) — 24 Std. (Z. T.)

Tropfen	Bakt.-Aufschw. Tropfen					
Erhitzt. Ser.	2			8		
8 = 1/5190	k.	k.	k.	k.	k.	k.
16 = 1/2580	k.	k.	k.	k.	k.	k.
1 = 1/1290	k.	k.	k.	k.	k.	Sp.?
2 = 1/640	k.	k.	k.	k.	Sp. Fl.	st. Sp.
4 = 1/320	k.	k.	k.	Fl.	st. Sp. Fl.	u. v.?
8 = 1/160	k.	k.	k.	st. Fl.	u. v.	u. v.
16 = 1/80	k.	k.	k.	st. Sp.	u. v.	u. v. +
1 = 1/40	k.	k.	k.	st. Sp.	u. v.	u. v. +
2 = 1/20	Sp.?	Sp.	u. v.?	u. v. +	u. v. +	u. v. +
4 = 1/10	u. v. +	f. v.	v.	u. v. +	u. v. +	u. v. +
8 = 1/5	u. v. +	f. v.	v.	u. v. +	f. v.	f. v.
16 = 1/2	u. v. +	f. v.	v.	f. v.	f. v.	k.
0	k.	k.	k.	k.	k.	k.

warten war, auch beim Zusammenwirken von aktivem und inaktiviertem Serum die Bedeutung der Bakterienmenge feststellen können. In einem mit Ruhrserum angestellten Versuch (Tab. LIII) tritt diese Bedeutung sehr prägnant zu Tage, da dieselbe Menge inaktivierten Serums einer kleineren Bakterienmenge gegenüber bis  $\frac{1}{40}$  (akt. Ser.) hemmt, einer vielfach größeren gegenüber nur bis  $\frac{1}{1280}$ . (Forts. folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Ueber die Agglutinabilität von Bakterien, besonders des *B. typhi*.

[Aus dem staatl. serotherapeutischen Institut in Wien  
(Vorstand: Prof. R. Paltauf).]

Von Dr. O. Porges und Dr. A. Prantschhoff.

(Fortsetzung.)

Aus dem Versuche p. 469, der als Beispiel aus mehreren anderen, die ein gleichsinniges Resultat gaben, herausgegriffen ist, ist zu ersehen, daß auch spontan ausflockende Kulturen Agglutinin absorbieren, allerdings in geringerer Menge als normale Bakterien. Dieses Resultat würde dafür sprechen, daß sie auch geringere Mengen von agglutinabler Substanz bilden. Da nun die agglutinable Substanz bekanntlich an das Bakterienprotein gebunden ist<sup>1)</sup>, so wird es wohl gestattet sein, das Ergebnis unseres Versuches als Beweis im Sinne der oben dargelegten Anschauung zu deuten, daß die spontan agglutinablen Bakterien weniger Protein produzieren oder zur Wirkung gelangen lassen, als normale Bakterien. In dem von Hamburger beobachteten Falle mag wohl die Menge der gebildeten agglutinablen Substanz und damit des Proteins eine so geringe gewesen sein, daß eine Agglutininabsorption nicht nachweisbar war. Demgegenüber ist allerdings zu erwähnen, daß nach P. Th. Müller<sup>2)</sup>, sowie Cole J. Rufus<sup>3)</sup> inagglutinable Bakterien weniger Agglutinin binden als normale, was jedoch mit den ein verwandtes Gebiet betreffenden Befunden von Pfeiffer und Friedberger<sup>4)</sup> in Widerspruch steht, so daß diese Frage als noch nicht geklärt dahingestellt werden muß.

Weiter legten wir uns die Frage vor: Wie wirkt das absorbierte Agglutinin auf spontan ausflockende Kulturen? Wie der eine von uns<sup>5)</sup> nachweisen konnte, reagiert das Agglutinin mit den Bakterien im Sinne eines ausfällenden Kolloides. Nach den hierbei beobachteten Gesetzen, hebt Ueberschuß des fällendes Kolloides die Ausflockung wieder auf und schützt auch vor der Ausflockung durch andere Fällungsmittel. Bakterien, die mit einem nicht mehr ausflockenden Ueberschuß von Agglutinin zur Reaktion gebracht werden, erweisen sich nunmehr als inagglutinabel, sie gehorchen nicht mehr den für sie selbst geltenden

1) Vergl. diesbezüglich die Untersuchungen von Obermayer und Pick, Wiener klin. Wochenschr. 1906. No. 12.

2) P. Th. Müller, Münch. med. Wochenschr. 1903. No. 2.

3) Cole J. Rufus, Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XLVI. 1904. p. 367.

4) Pfeiffer und Friedberger, Berliner klin. Wochenschr. 1902. No. 25.

5) Porges, Centralbl. f. Bakt. I. c.

Fällungsgesetzen, sondern zeigen diesbezüglich das Verhalten des sie gleichsam einschließenden Agglutinins, sie lassen die Salzfällungsgrenzen der Globuline und nicht die ihnen selbst zukommenden höheren Fällungswerte erkennen. Die nachfolgenden Versuche liefern nun den Beweis, daß diese Anschauung berechtigt war, denn die Spontanagglutination wird durch einen Ueberschuß von Agglutinin oder noch besser von erhitztem überschüssigem Agglutinin aufgehoben.

## Versuch II.

Spontan agglutinierender Typhusstamm und normales Typhus-Pferdeimmunserum.

Serumverdünnung				Kontr.	Untersucht nach
1:2	1:4	1:8	1:16		
—	—	±	±	+	6 Stunden
±	±	+	+	+	24 „

## Versuch III.

Serum	Kultur	Serumverdünnung				Kontr.	
		1:6	1:24	1:72	1:144		
Erhitztes Typhus-Pferdeimmunserum	Spontan agglut. Typhusstamm	—	+	+	+	+	Nach 24 Stunden untersucht
Erhitztes Typhus-Pferdeimmunserum	Spontan agglut. Colistamm	+	+	+	+	+	
Erhitztes Typhus-Pferdeimmunserum	Spontan agglut. Dysenteriestamm (Kruse)	+	+	+	+	+	
Erhitztes Typhus-Pferdeimmunserum	Normaler Typhusstamm	—	—	—	—	—	
Erhitztes normales Pferde-serum	Spontan agglut. Typhusstamm	+	+	+	+	+	

## Versuch IV.

Spontan agglutinierender Typhusstamm und Typhus-Pferdeimmunserum.

Serum erhitzt	Serumverdünnung								Kontr.	
	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256		
1 Stunde auf 60°	—	Spur	Spur	±	±	±	±	+	+	Nach 24 Stund. unters.
1 „ „ 65°	—	—	Spur	Spur	Spur	±	±	+	+	

Die in voranstehenden Versuchen charakterisierte Wirkungsweise des Agglutinins auf die spontan agglutinierenden Bakterien läßt uns schwer einen vollständigen Parallelismus zu der bekannten ausflockungshemmenden Eigenschaft eiweißartiger Kolloide erkennen. Eine Mastixsuspension wird z. B. nach Neisser und Friedemann, sowie Bechhold<sup>1)</sup> durch eine überschüssige (nicht mehr fällende) Menge Serum vor der Ausflockung durch Salze geschützt, wie dies hier bezüglich einer Immunkörperreaktion nachgewiesen ist. Daß es sich in unseren Versuchen um eine spezifische Schutzwirkung handelt, beweist der Versuch mit erhitztem normalem Pferdeserum, sowie der Kontrollversuch bezüglich der Einwirkung von erhitztem Typhusimmunserum

1) L. c.

auf heterologe, spontan ausflockende Bakterien (*B. coli*, *B. dysenteriae* Kruse).

### b) Einwirkung der Salze auf spontan ausflockende Bakterien.

Im Vorangehenden ist, wie wir glauben, der Nachweis erbracht worden, daß die spontan ausflockenden Bakterien mit dem Agglutinin qualitativ in derselben Weise reagieren wie normale Bakterien. Weiter mußte versucht werden, durch Untersuchung der Wirkungsweise der Salze<sup>1)</sup> über den wesentlichen Unterschied zwischen beiden näheren Aufschluß zu gewinnen.

Normale Bakterien werden, wie der eine von uns zeigen konnte<sup>2)</sup>, von Salzen wie Eiweißkörper gefällt oder, wie man wegen der hohen erforderlichen Konzentration sich ausdrückt, ausgesalzen. Die Wirkung der einzelnen Salze ist nun nach Pauli<sup>3)</sup> zusammengesetzt aus einem fällenden Effekt der Kationen und einem lösenden oder suspendierenden der Anionen, wobei diesbezüglich eine bestimmte Reihenfolge der Ionen zur Beobachtung gelangt. (Fällende Kationen  $\text{Na} > \text{K} > \text{NH}_4 > \text{Mg}$ , lösende Anionen  $\text{NO}_3 > \text{Cl} > \text{SO}_4$ .)

Ganz andere Verhältnisse ergaben nun unsere Versuche über die Wirksamkeit der verschiedenen Salze auf spontan agglutinable Bakterien.

Die zu diesen Versuchen verwendeten Suspensionen waren Aufschwemmungen von 24-stündigen Typhusagarkulturen, die tagelang gegen fließendes Leitungswasser, später gegen destilliertes Wasser dialysiert worden waren. In den einzelnen Versuchen wurde immer dieselbe Menge Bakterienaufschwemmung mit dem gleichen Volumen der betreffenden Salzlösung versetzt. Durch die lang andauernde Dialyse war die Kultur in der Weise modifiziert worden, daß ihre Salzfällungsgrenzen etwas höher lagen, als dies sonst bei „spontan“, d. h. in physiologischer Kochsalzlösung, zusammenflockenden Bakterien der Fall zu sein pflegt.

#### Versuch V.

Salz	Salzkonzentration in Normallösung							
	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{3}$	$\frac{1}{8}$	$\frac{1}{18}$	$\frac{1}{30}$	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{200}$
$\text{NH}_4\text{Cl}$	+	+	—					
$\text{NH}_4\text{NO}_3$	+	+	—					
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	+	—	—	—	—	—	—	—
$\text{MgCl}_2$	+	+	+	+	+	+	+	—
$\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$	+	+	+	+	+	+	+	—
$\text{MgSO}_4$	+	+	+	+	+	+	+	—
KCl	+	—						
$\text{KNO}_3$	+	—						
NaCl	+	+	Spur					
$\text{NaNO}_3$	+	—						

Wie aus voranstehendem Versuch hervorgeht, ist die fällende Wirkung aller Salze bis auf die der Magnesiumsalze gleich, die Magnesiumsalze wirken aber noch in ungefähr 25-fach verdünnterer Lösung als die anderen Salze. Aehnliche Gesetzmäßigkeiten sind nun für die Salzfällung vieler instabiler Suspensionen und kolloidaler Lösungen beobachtet worden. Nach den Untersuchungen zahlreicher Autoren sind es Kolloide von

1) Wir sprechen hier nur von den Neutralsalzen der Alkalimetalle und des Magnesiums, da die anderen Salze sich zum großen Teil normalen und spontan agglutinierenden Bakterien gegenüber gleichartig verhalten.

2) l. c.

3) Pauli, Hofmeisters Beitr. Bd. III. 1903. p. 225.

anodischer Konvektion, die durch die Kationen der Salze gefällt werden, wobei es zu einer elektrischen Neutralisierung kommt. Für das Fällungsvermögen der einzelnen Salze ist hier die elektrische Ladung und damit die Wertigkeit des Kations von ausschlaggebender Bedeutung. Damit stimmen die von uns beobachteten Verhältnisse gut überein, denn die anodischen Bakterien werden durch die Salze des zweiwertigen Magnesiums bedeutend leichter gefällt als durch die Salze der einwertigen Kationen. Es mag noch Erwähnung finden, daß auch die Salzfällung der Agglutininbakterien nach demselben Gesetze erfolgt, wie die Untersuchungen von Neisser und Friedemann, sowie Bechhold und frühere Versuche des einen von uns gezeigt haben. Mithin besteht zwischen normalen und spontan agglutinierenden Bakterien ein grundlegender Unterschied bezüglich der Salzfällung. Die ersteren verhalten sich wie die sogenannten stabilen eiweißartigen Kolloide, die letzteren wie die Kolloide und Suspensionen von geringer Stabilität. Daraus ergibt sich mit Notwendigkeit der Schluß: Den spontan ausflockenden Bakterien fehlt die suspendierende Wirkung der Eiweißkörper.

Eine weitere Stütze erfährt diese Annahme durch die Beobachtungen von Friedberger und Lürssen, die in einem Falle zeigen konnten, daß eine spontan agglutinable Cholerakultur nach längerem Wachstum die spontane Ausflockungsfähigkeit einbüßte. Wir selbst können diese Angaben durch eigene Versuche bestätigen und erweitern. Wurden von einem spontan ausflockenden Stamme, der nicht mehr vollständig sedimentierte, verschiedenalterige Kulturen angelegt, so zeigte es sich unter Einhaltung gleicher Beobachtungsdauer, daß die jüngsten am raschesten und vollständigsten, die ältesten unvollständig sedimentierten. Es liegt nun die Annahme nahe, daß diese Verhältnisse von der Proteinbildung abhängig sind, die bei älteren Kulturen in größerer Menge erfolgt sein dürfte. Außerdem mag aber auch bei diesen Verhältnissen die örtliche Anordnung des Proteins eine Rolle spielen, denn es wäre denkbar, daß das im Innern der Zellen befindliche und dadurch unwirksame Eiweiß bei älteren Kulturen an die Oberfläche tritt, wofür die nachfolgenden Versuche mit erhitzten, spontan agglutinablen Bakterien Anhaltspunkte ergeben.

#### c) Verhalten spontan agglutinierender Bakterien nach Erhitzung auf höhere Temperaturen.

Wie an anderer Stelle von dem einen von uns gezeigt werden konnte<sup>1)</sup>, geht die Agglutinabilität der Bakterien nach kurzem Erwärmen auf 65–90° erheblich zurück oder schwindet fast vollständig, nimmt jedoch durch andauerndes Erhitzen auf 100° in steigendem Maße wieder zu. In gleichem Sinne nimmt die Suspensionsstabilität der Kultur durch Erhitzen auf 80° zu, durch Erhitzen auf 100° wieder ab, wie die Ausfällung mit Ammonsulfat zeigte. Es war nun von Interesse, das diesbezügliche Verhalten spontan ausflockender Bakterien zu untersuchen.

Unsere Versuche ergaben, daß nach kurzem Erhitzen auf Temperaturen über 65°, am ehesten auf 80° die Spontanagglutinabilität schwindet, nach längerem (oft schon

1) Porges, Zeitschr. f. exper. Pathologie u. Therapie. Bd. I. 1905. Vergl. auch Dreyer und Jex-Blake, Mem. de l'Acad. R. des Sciences et des L. de Danemark. 1905.



1-stündigem) Erhitzen auf 100° wieder auftritt. Auf die ausführliche Wiedergabe der zahlreichen Versuche soll hier verzichtet werden, da sie die beobachteten Tatsachen nicht näher illustriert als die bloße Erwähnung. Untersucht wurden spontan ausflockende Stämme von Typhus (durch verdünntes Immunserum passiert), Cholera, Dysenteriae Kruse, Coli (alte Laboratoriumsstämme). Interessant war das Verhalten des auf 80° erhitzten Typhusstammes gegenüber Typhusimmunserum. Es ergab sich nämlich, daß durch 5 Minuten langes Erhitzen auf 80° nicht nur die Spontanagglutinabilität sondern auch die spezifische Agglutinabilität vollständig geschwunden war. Die hier beobachtete hochgradige Erhöhung der Suspensionsstabilität würde vielleicht in der Weise einer Erklärung zugänglich sein, daß im Inneren der Zelle befindliche und daher für den Suspensionszustand belanglose Eiweißkörper durch das Erhitzen an die Oberfläche getreten sind, und auf diese Art zur Reaktion mit dem die Bakterien umgebenden Wasser gelangen, wodurch ihre suspendierende Eigenschaft in Erscheinung tritt<sup>1)</sup>. Daß diese Proteine in geringer Menge vorhanden sind, zeigte uns jedoch die Beobachtung, daß nach halbstündigem Erhitzen auf 100° die Spontanagglutination bei dieser Kultur wieder auftritt, die Hydrolyse des suspendierenden Bakterieneiweißes mithin nach kurzer Zeit vollzogen ist.

Die auf 80° erwärmte, spontan ausflockende Cholerakultur war wie eine normale, auf 80° erhitze Cholerakultur leicht agglutinabel.

Diese Beobachtungen könnten ihre praktische Verwertung finden, wenn sich die Notwendigkeit ergibt, spontan ausflockende Kulturen zu bestimmen. Bei solchen Kulturen ist die Agglutinationsdiagnostik, wie ohne weiteres einleuchtet, ausgeschlossen. Einen solchen Fall, in dem es sich um Vibrionen handelt, die aus Cholerastühlen gezüchtet waren, hat jüngst Friedberger<sup>2)</sup> und Lürssen mitgeteilt, und für solche Vorkommnisse den Pfeifferschen Versuch behufs Differenzierung empfohlen. In derartigen Fällen würde man durch die Agglutinationsdiagnostik unter Verwendung einer Kultur, die kurze Zeit auf 80° erhitzt war, rascher und sicherer<sup>3)</sup> zu einem Resultate gelangen. Auch für die Bestimmung von spontan ausflockenden Typhuskulturen dürfte sich leicht eine ähnliche Methode, die eine stabile und doch leicht agglutinable Suspension liefert, ausarbeiten lassen (etwa kurzes Erhitzen auf 100°). Die Notwendigkeit, spontan ausflockende, typhusähnliche Kulturen aus typhusverdächtigem Material bestimmen zu müssen, mag sich jedoch äußerst selten ergeben. Ein derartiger Fall ist bisher noch nicht mitgeteilt worden.

## II. Inagglutinabilität und verminderte Agglutinabilität der Bakterien.

Unter Inagglutinabilität bzw. verminderter Agglutinabilität verstehen wir in folgendem eine Erscheinung, die darin zum Ausdruck gelangt, daß die betreffenden Stämme im Tierkörper ein Immunserum erzeugen, das andere Stämme zu höheren Werten agglutiniert als den

1) Eine Rolle dürfte jedenfalls auch die physikalisch-chemische Zustandsänderung der Proteine spielen. Vergl. Porges, Zeitschr. f. exper. Pathol. u. Ther. I. c.

2) Friedberger und Lürssen I. c.

3) Der Pfeiffersche Peritonealversuch mag diesbezüglich nicht immer verlässlich sein, wie wenigstens aus jüngst publizierten Arbeiten hervorgeht (Friedberger und Moreschi, Berl. klin. Wochenschr. 1905. No. 45. Besserer und Jaffé, Deutsche med. Wochenschr. 1905. No. 51).

homologen Stamm. Nur auf diese Art kann ein herabgesetztes Ausflockungsvermögen erwiesen werden, ist dagegen das verwendete Immuns-  
 erum nicht homolog im strengsten Sinne des Wortes, so kann das beobachtete Ausbleiben der Agglutination bei einem untersuchten Stamme in denselben Ursachen begründet sein, aus denen z. B. ein Paratyphus-  
 serum manche Typhusstämme ausflockt, andere wieder unbeeinflusst läßt. Ein hervorstechendes Beispiel von Inagglutinabilität findet sich in einer Arbeit von Ballner und v. Sagasser<sup>1)</sup>, die durch Injektion von B. rhinoscleromat. ein Immuns-  
 erum erhielten, das den B. rhinoscleromat. gar nicht, Typhusbacillen dagegen noch bis zu hoher Serumverdünnung agglutinierte. Die Ursachen der Inagglutinabilität sind wiederum in den bereits erörterten Beziehungen zwischen Bakterienprotein und Suspensionsstabilität zu suchen. Für die Inagglutinabilität der Kapselbakterien ist, wie bereits festgestellt ist<sup>2)</sup>, eine vermehrte Proteinbildung verantwortlich zu machen, denn nach partieller Hydrolyse des Proteins erhält man eine agglutinable Suspension. Es war nun Gegenstand der folgenden Untersuchungen, zu ermitteln, ob den bei den Kapselbakterien beobachteten Tatsachen eine allgemeine Gültigkeit zukommt, d. h. ob die Inagglutinabilität auf vermehrter Proteinbildung beruht. Ließ sich durch partielle Hydrolyse des Proteins bei Bakterien von verminderter Agglutinabilität ein Ausflockungsvermögen von normalem Umfang erreichen, so war der Beweis für diese in Frage stehende Annahme erbracht.

Verminderte Agglutinabilität ist, abgesehen von zufälligen Befunden bei Laboratoriumsstämmen, hauptsächlich beobachtet worden bei frisch aus dem Tierkörper gezüchteten oder durch Tiere passierten Kulturen, bei den Exsudatbakterien (Bail), nach Passagen durch agglutininhaltige Nährböden, bei unter besonderen Bedingungen gezüchteten, sonst leicht agglutinablen Stämmen. Alle diese Fälle sind von uns untersucht worden.

#### a) Inagglutinabilität aus dem Tierkörper gezüchteter Bakterien.

Die erste hierher gehörige Beobachtung rührt von Vidal und Sicard her, die zeigen konnten, daß aus dem Blute von Typhuspatienten gezüchtete Stämme durch das Serum der Kranken weniger agglutiniert wurden als Laboratoriumsstämme. Die ausgedehnte Literatur diesbezüglicher Beobachtungen ist vollständig von Palt auf zusammengestellt<sup>3)</sup>. Hier seien bloß von den Angaben deutscher Autoren diejenigen von P. Th. Müller, Eisenberg, Lipschütz, R. Schmidt und Kirstein erwähnt. Hervorzuheben ist noch, daß hierbei die Inagglutinabilität auch Anlaß von Irrtümern wurde (Schmidt), die sich erst nach Monaten aufklärten. Nach den Angaben der meisten Autoren nimmt die Agglutinabilität derartiger Stämme nach einer Reihe von Passagen durch Laboratoriumsnährböden bis zum normalen Umfang zu.

Unsere eigenen Beobachtungen beziehen sich auf 5 aus der Milz von Typhusleichen gezüchtete Stämme<sup>4)</sup>. Vier von diesen Stämmen (I—IV) zeigten eine verringerte Agglutininierbarkeit (davon einer in so

1) Ballner u. v. Sagasser, Archiv f. Hygiene. Bd. LI. 1904. p. 245.

2) Porges, Wiener klin. Wochenschr. I. c. Vergl. auch Streit, Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. LX. 1906. p. 709.

3) Palt auf in Kolle und Wassermann, Handbuch d. pathogenen Mikroorganismen. Bd. IV. p. 753.

4) Für die gütige Ueberlassung des Materials aus der Prosektur des Rudolfs-  
 spitales in Wien sei auch an dieser Stelle Herrn Doz. Dr. C. Sternberg, Prosektor des  
 Brünner Landeskrankenhauses, unser verbindlichster Dank zum Ausdruck gebracht.

hohem Grade, daß ein Zweifel an der Zugehörigkeit zur Typhusart gerechtfertigt war), einer (V) wurde bis zu derselben Serumverdünnung wie Laboratoriumsstämme ausgeflockt. Stämme I—IV erreichten nach einer Reihe von Agarpassagen die Agglutinerbarkeit von Laboratoriumsstämmen. Stamm V nahm nach 20 Passagen in seinem Ausflockungsvermögen beträchtlich ab, um dann wieder zuzunehmen. Erwähnt sei noch, daß wir uns wiederholt von der Reinheit der Kulturen überzeugten und eine Verunreinigung mit typhusähnlichen Bakterien (*B. dysenteriae*, *B. faecalis alcaligenes*) mit Sicherheit ausschließen konnten. Um in die mutmaßlichen Ursachen der verminderten Agglutinerbarkeit Einblick zu gewinnen, wurde jede Kultur normal und nach einstündigem Erhitzen auf 100° untersucht, da diese Vorbehandlung bei Typhusbakterien genügt, um eine ausreichende Hydrolyse der Proteine herbeizuführen. Für die Beurteilung unserer Versuche ist noch hervorzuheben, daß Laboratoriumsstämme, die in nativem Zustande von dem von uns verwendeten Serum bis zu 10000—20000-facher Verdünnung ausgeflockt werden, nach längerem Erhitzen auf 100° bis zur 1000—2000-fachen Verdünnung agglutinieren. Höhere Werte zeigt dieses Serum mit keinem noch so leicht agglutinablen auf 100° erhitzten Stamm<sup>1)</sup>.

## Versuch VI. Agglutination mit Typhuspferdeimmunserum.

Stamm	Passage	Vorbehandlung	Serumverdünnung							Kontr.	
			20	200	1000	2000	4000	10 000	20 000		40 000
LI	1	normal	+	—	—	—	—	—	—	—	—
LI	1	1 Std. auf 100° erh.	+	+	+	+	—	—	—	—	—
LI	15	normal	+	+	+	+	±	±	±	Spur	—
LI	15	1 Std. auf 100° erh.	+	+	+	+	±	±	±	—	—
LI	30	normal	+	+	+	+	±	Spur	—	—	—
LI	30	1 Std. auf 100° erh.	+	+	+	+	—	—	—	—	—
LII	1	normal	+	+	+	+	Spur	—	—	—	—
LII	1	1 Std. auf 100° erh.	+	+	+	Spur	—	—	—	—	—
LII	15	normal	+	+	+	+	+	±	±	±	—
LII	15	1 Std. auf 100° erh.	+	+	+	+	—	±	±	±	—
LII	42	normal	+	+	+	+	±	±	±	—	—
LII	42	1 Std. auf 100° erh.	+	+	+	+	±	—	—	—	—
LIII	1	normal	+	+	+	+	Spur	—	—	—	—
LIII	1	1 Std. auf 100° erh.	+	+	+	+	Spur	—	—	—	—
LIII	15	normal	+	+	+	+	±	±	±	Spur	—
LIII	15	1 Std. auf 100° erh.	+	+	+	+	Spur	±	±	—	—
LIII	42	normal	+	+	+	+	+	±	±	Spur	—
LIII	42	1 Std. auf 100° erh.	+	+	+	+	—	—	—	—	—
LIV	1	normal	+	+	+	+	Spur	—	—	—	—
LIV	1	1 Std. auf 100° erh.	+	+	+	+	Spur	—	—	—	—
LIV	15	normal	+	+	+	+	±	±	±	Spur	—
LIV	15	1 Std. auf 100° erh.	+	+	+	+	±	±	±	—	—
LIV	42	normal	+	+	+	+	+	±	±	—	—
LIV	42	1 Std. auf 100° erh.	+	+	+	+	—	—	—	—	—
LV	2	normal	+	+	+	+	+	Spur	—	—	—
LV	2	1 Std. auf 100° erh.	+	+	±	Spur	—	—	—	—	—
LV	19	normal	+	+	—	—	—	—	—	—	—
LV	19	1 Std. auf 100° erh.	+	+	±	Spur	—	—	—	—	—
LV	26	normal	+	+	±	Spur	—	—	—	—	—
LV	26	1 Std. auf 100° erh.	+	+	+	±	—	—	—	—	—
Laboratoriumsst.	—	normal	±	+	+	+	+	+	±	Spur	—
Laboratoriumsst.	—	1 Std. auf 100° erh.	+	+	+	+	Spur	—	—	—	—

1) Porges, Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XXXIX. 1905. p. 319.

(Schluß folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Agglutination and biological relationship in the prodigiosus group<sup>1)</sup>.

[Bacteriological Laboratory, The University of Chicago, U. S. A.]

By **Mary Hefferan, Ph. D.**

With a diagram.

A series of organisms with cultural characteristics more or less like those of *Bacillus prodigiosus* have been under the writer's observation for five years. During this time the cultures have been kept usually on agar, neutral or slightly acid to phenolphthalein, in the stock case, transferred once in six to ten weeks, and occasionally, when needed for experiment, rejuvenated by growth in broth, gelatin, and plating in agar. Milk, gelatin, and fermentation tubes were inoculated after rejuvenation and plating, to determine whether any change had occurred in the cultural reactions. The variations from the *Prodigiosus* type shown by the series under these conditions have proved to be fairly constant; and the descriptions made two years ago<sup>2)</sup> still hold, except for a few changes noted below.

Partly because of its constancy, the agglutination reaction is often used as a final test in determining relationship or identity between races of bacteria; and yet, as in the typhoid-colon group, it is recognized that strains biochemically alike sometimes form no common agglutinins. On the other hand, some investigators distinguish between organisms by their lack of the agglutinative reactions. Thus, Wollstein<sup>3)</sup> differentiates *B. influenzae* and the bacillus isolated from cases of pertussis by means of the agglutinative reaction; and Goodwin<sup>4)</sup> isolated from the nasal secretions of healthy persons a *Diplococcus* which was identical with typical *Meningococcus* (from spinal fluid) except for its agglutination.

With a series of cultures such as these of the *Prodigiosus* type, belonging to a well marked group and showing under such continued scrutiny fairly fixed likenesses and differences, it seemed that some definite results might be obtained in regard to specific and group agglutination, and it is the purpose of the present paper to record certain experiments to this end.

The Cultures. Twentytwo strains or varieties of the *Prodigiosus* type were used in these experiments, viz.: — *B. prodigiosus* I—IX; *B. ruber indicus* I and II; *B. kiliensis* I and II; *B. miniaceus* I and III; *B. plymouthensis* I and II; *B. rutilus*, *B. rutilescens*, *B. amyroruber*, *B. fuchsianus* I and II; *B. ruber Miquel*. These cultures have been described in detail as noted above, and their characters may be merely summarized here. They are all short motile bacilli, with the exception of *B. ruber Miquel*, which is larger and non-motile. All liquefy gelatin except *B. ruber Miquel*.

1) Read at the seventh annual meeting of the Society of American Bacteriologists, Ann Arbor, Michigan, December 1905.

2) *Centralbl. f. Bakt.* 1904. Bd. XI. p. 311, 397, 456, 520.

3) *Journ. Exp. Med.* 1905. Vol. VII. p. 335.

4) *Journ. Infect. Diseases.* 1906. Suppl. 2. p. 21.

All produce, or have produced, a brilliant red pigment on the surface of agar, gelatin, and potato, except *B. rutilescens*, which shows only a soluble red color diffusing through the medium; but as the other cultures also occasionally show this, and as *B. rutilescens* agrees in general characters, it is classed with this group. *B. fuchsinus* has for five years evinced only an occasional trace of pigment. *B. amylo-ruber* is characterized by a dark violet-red pigment differing from the brighter red of the others. All coagulate milk except *B. ruber* Miquel. They differ in the ability to ferment sugars.

*B. prodigiosus* I has been in this laboratory for more than eight years; II and III were probably derived from I, but have been in other laboratories in the city of Chicago for several years; IV—VIII came from other universities; *B. rutilus*, *rutilescens* and *amylo-ruber* were isolated from Mississippi River water in 1901. The others were either isolated from water or obtained from Králs Laboratorium.

The following changes in cultural features have occurred since the description of two years ago.

1) *B. prodigiosus* I, which had acquired a viscous growth, has again lost this character; *B. prodigiosus* VIII still retains the viscosity, and *B. fuchsinus* I has developed it to some extent.

2) *B. amylo-ruber* has acquired the power of fermenting dextrose to gas production, and of coagulating milk. It still retains its distinctive violet color of pigment and its crusty growth on agar.

3) *B. fuchsinus* I is still colorless under ordinary conditions, and *B. fuchsinus* II is nearly so. Since the summer of 1904 *B. prodigiosus* VII has shown no pigment on agar or gelatin, though the growth is luxuriant. It is probable that the conditions of preservation in a stock case, with only occasional transference to a fresh agar tube, are detrimental to the pigment function of these two organisms. On the other hand, such conditions enhance the pigment production of *B. ruber indicus* I and II, which are more brilliantly colored during the first few transferences from an old culture than after rejuvenation.

In addition to the cultures above described, *B. prodigiosus* IX was obtained from Manila through the kindness of Dr. William B. Wherry, who isolated it from the body of a rat in 1903. Morphologically and culturally it is like *B. prodigiosus* I. After cultivation for two years, it still grows with luxuriant pigment, coagulates milk in 48 hours with later peptonization, liquefies gelatin rapidly, and ferments dextrose, lactose, and saccharose, but without gas production.

A differentiation of the members of the *Prodigiosus* group mentioned above may be roughly made as follows:

A. Gelatin liquefied.

1. No gas in dextrose, lactose, or saccharose.

*B. prodigiosus* VIII and IX, *B. fuchsinus* I and II, *B. rutilescens*.

2. Gas in dextrose only.

*B. prodigiosus* I, II, III, *B. amylo-ruber*.

3. Gas in dextrose and saccharose only.

*B. prodigiosus* IV, VI, VII, *B. ruber indicus* I and II, *B. rutilus*.

4. Gas in dextrose, lactose, and saccharose.

*B. prodigiosus* V, *B. plymouthensis* I, II, III, *B. minia-ceus* I and III, *B. kiliensis* (*ruber balticus*) I and II.

B. Gelatin not liquefied.

Gas in dextrose only.

B. ruber Miquel.

**Method.** The cultures used for inoculation were grown at room temperature, 20—25° C. A 24—36 hours slant agar culture was suspended in five ccm of sterile 0.85 per cent. salt solution, and two ccm of this injected into the intraperitoneal cavity of the animal used, rabbit or guinea-pig. This dose was adopted as the standard because it was found that a larger quantity or a culture older than 48 hours was occasionally fatal to a guinea-pig. Subcutaneous inoculations were avoided because of the large abscesses which they produce. Inoculations were made at intervals of two days to a week. Rabbits were bled from the marginal ear-vein, guinea-pigs were either killed or bled from the jugular vein. The sterile Stender dish in which blood was received was slanted for clotting, then placed in the icebox over night to allow the serum to separate. Dilutions were made with 0.85 per cent salt solution. Cultures grown on agar for 24 to 48 hours at room temperature were used for agglutination, one agar slant being suspended in 10 or 15 ccm of salt solution, according to the luxuriance of the growth. The macroscopic method was used entirely, one ccm of the serum dilution being added to one ccm of culture suspension in each three inch tube to give the final dilution. Four hours was fixed as the time limit with these rapidly growing organisms, both at 37° and at room temperature. Agglutination was considered positive (+) when flakes were formed which were just visible to the naked eye, marked (++) when entire flocculation took place, and complete or perfect (+++) when sedimentation and clearing of the fluid was obtained. Controls were made with normal serum in a 1:40 dilution.

### I. Agglutination results.

The outcome of tests made with 13 different sera upon this series of 23 cultures may be seen in Table I, and is graphically expressed in Chart I. The results recorded are the dilutions in which agglutination could be considered positive (+).

Study of these results shows at once certain group relations. B. prodigiousus I serum agglutinates equally its homologous culture and the two cultures which were supposedly derived from it half a dozen years ago; where acted upon by other sera, also, these cultures are seen to be identical. This is true also, in the earlier tests, of B. fuchsinus I and II, which were derived from the same culture in 1898. A negative result was shown by B. fuchsinus I with B. prodigiousus VI serum but this was due to the viscosity acquired by the culture during the last six months. B. ruber indicus I and II, which were probably derived from the same culture several years ago, were identical in regard to the serum produced by B. ruber indicus I and two other sera, but differed slightly with rutilus and rutilescens sera. These three sets of cultures are the only ones in which a common genealogy can be traced; and no other two cultures of the series show such closely similar reactions. It is to be noted that the agglutinative relations are stable in these cases to such an extent that the culture can be identified by this means after existing under slightly different conditions for years. B. amyloruber and B. rutilus, which show a close relationship (except in the case of two sera which agglutinate



one but not the other), were both isolated from Mississippi River water, and may have had a common origin, although they differ slightly in color of pigment and in gas production. Under the variety of conditions which organisms living in a natural environment may encounter, more divergence might be expected than could occur under an artificial cultivation which does not permit much selection.

Another striking feature brought out by Table I is the definite grouping of those races which produce a large amount of gas in dextrose, lactose, and saccharose broth, i. e., *B. kiliensis* I and II, *B. plymouthensis* I and II, *B. miniaceus* I and III, and *B. prodigiosus* V. Two sera obtained by inoculating with *B. kiliensis* I and *B. plymouthensis* II agglutinate all these organisms in high dilutions and agglutinate no others except for the slight reaction of *B. kiliensis* I serum on the readily agglutinable races *B. rutilus* and *B. amyoloruber*. Nor are the members of this group influenced by any other of the sera, with the one exception of *B. plymouthensis* II, which is acted upon in a dilution of 1:40, by the powerful serum of *B. prodigiosus* VI. As far as tested, then, this group seems quite clearly set off from the others, a result in accordance with the conclusions of Hiss<sup>1)</sup> who found that the agglutinative test supported the classification indicated by differences in fermentative activities among the bacilli of the dysentery group.

Study of the chart shows the confusion of interactions among the remainder of the series. *B. rutilus* and *B. amyoloruber* are agglutinated by 8 heterologous sera, *B. ruber indicus* by 6, the others by not more than 3 or 4. *B. ruber indicus*, *B. rutilus*, and *B. prodigiosus* VI react upon each other to about the same dilution, 1:500, although the sera are of different values. *B. rutilescens* also acts upon these three cultures to about the same degree, although there is a reciprocal reaction only with *B. ruber indicus*, even the powerful serum of *B. prodigiosus* VI failing to agglutinate *B. rutilescens*. Unfortunately, absorption tests were not made with these sera.

*B. rutilescens*, hitherto a doubtful member of this group because of its lack of insoluble red pigment and its similarity to *B. lactis erythrogenes*, has some light thrown upon its position though its rather strong agglutination by the serum of *B. fuchsinus* I, a culture also inclined to be colorless, and its slight agglutination by the serum of *B. ruber indicus* I, a culture which often produces a soluble red pigment similar to that of *B. rutilescens*. Its serum, on the other hand, acts on *B. prodigiosus* VI, *B. ruber indicus*, *B. rutilus*, and *B. fuchsinus*, while repeated tests upon *B. lactis erythrogenes* and *B. fluorescens* gave negative results. These reactions accordingly confirm the relationship of this culture to the *Prodigiosus* group.

The non-motile, non-liquefying culture *B. ruber* Miquel showed low agglutinogenic power, and it was with difficulty that a serum was obtained which acted in a dilution of 1:200 upon the homologous culture. It also agglutinated slightly *B. amyoloruber* and *B. ruber indicus*.

1) Journ. Med. Res. Vol. XII. 1904. p. 1.



## II. Agglutinability and agglutinogenic power.

Buxton and Vaughan<sup>1)</sup> confirm Sacquepé's<sup>2)</sup> observation that the serum of an animal immunized with a poorly agglutinable typhoid race agglutinates other races better than it does the bacilli of immunization. A similar result was obtained by immunizing a rabbit with *B. prodigiosus* VIII, a culture which shows a ropy viscid growth, the individual bacilli possessing gelatinous capsules. The animal received nine subcutaneous inoculations of two ccm each, extending over a period of two months, with an interval of a month between the fifth and sixth inoculations. The serum agglutinated only *B. prodigiosus* I, II, III and VIII.

Table II.  
Rabbit serum *B. prodigiosus* VIII.

	1 hour 10° C				1 hour — 4 hours 37° C			
	40	200	1000	2000	40	200	1000	2000
Prod. I	++	++	++	+	++	++	+	—
„ II	++	++	++	+	++	++	+	—
„ III	++	++	++	+	++	++	+	—
„ VIII	—	—	—	—	—	—	—	—

	6 hours 10° C.						
	40	200	500	1000	2000	4000	6000
Prod. I	—	++	+++	+++	++	sl.	—
„ II	—	++	+++	+++	++	sl.	—
„ III	—	++	+++	+++	++	sl.	—
„ VIII	+++	+	+	—	—	—	—

Considering the long intervals between inoculations, this serum compares favorably in agglutinative value with the sera produced by races ordinarily agglutinable. The feeble reaction to the homologous culture, which was not agglutinated by any of the other sera, is due, as Shibayama<sup>3)</sup> found with races of the plague bacillus, to the mucoid condition of the bacilli, and is quite distinct from the inagglutinability of freshly isolated typhoid cultures, which become agglutinable by continued cultivation on artificial pabulum. A similar reaction was shown by two other cultures of the series, *B. prodigiosus* I and *B. fuchsinus* I, when, by some process of mutation or of adaptation, they acquired a mucoid condition of growth.

On the other hand, *B. rutilus*, which, since it reacts to nine sera, may be considered the most readily agglutinable race of the series, produced after eight inoculations a serum of slightly less value for the homologous culture than did *B. kiliensis* I or *B. fuchsinus* I with the same number of inoculations. *B. amyloclavus*, also readily agglutinable, possessed a fairly high agglutinogenic power, the serum, showing, one week after the first inoculation, a value of 250 for the homologous culture and of 100 for *B. rutilus*; after five intraperitoneal inoculations the homologous culture, both fresh and formalinized, and *B. rutilus*, were all agglutinated in a dilution of 1:10000 in four hours at 37°. Its action was limited, however, to these two cultures. A guineapig

1) Journ. Med. Res. Vol. VII. 1904. p. 115.

2) Ann. Past. Vol. XV. 1901. p. 249.

3) Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXVIII. 1905. p. 482.

which received two subcutaneous and three intraperitoneal inoculations gave a similar serum, with a value of 1:2000 for the two cultures acted upon.

Neither of the two readily agglutinable cultures *B. rutilus* and *B. amylo-ruber* showed so high an agglutinogenic power as did *B. prodigiosus* VI, which after three inoculations gave a serum value of 1:20 000. It was with difficulty that any results were obtained with the non-motile non-liquefying culture *B. ruber Miquel*, which acted upon the homologous cultures, on *B. ruber indicus* I and II and on *B. amylo-ruber* only in low dilutions.

III. Optimum temperature for agglutination.

Asakawa<sup>1)</sup> found that typhoid agglutination, which ordinarily takes place in an hour or more at 37°, occurred immediately if the temperature was lowered to the freezing point. Weil<sup>2)</sup> observed that the typhoid reaction took place more readily at a temperature of 55–60° than at the usual one of 37°. By heating culture and serum separately, Weil found that the beneficial influence of the higher temperature was exerted upon the culture.

*B. prodigiosus* VI, which produced a serum of high value after three inoculations and which agglutinated readily, was used for a comparative test of these methods. Dilutions were made as usual, and the small tubes, with the culture suspension in them, were placed in a mixture of ice and salt for the zero method and in warm water for the high temperature method, just before the serum dilution was added.

Table III.  
Prod. VI, culture 48 hours, and serum 24 hours.

	40	200	500	1000	2000	4000	8000	10 000	20 000	40 000	
15 min.											
23°	+	+	+	+	+						{ all very min floculi <sup>3)</sup> all large floc- culi <sup>3)</sup>
0°	++	++	++	++	++	++					
24 hour culture. 10 min.											
23°	++	+	+		sl.	+					
55°	++	++	++	++	++	++	++	++	++	—	
	large floculi			very larg.fl.	large floculi			smaller floculi			
2 hours.											
23°	++	+	++	++	++	++	++	++	+	—	
55°	++	++	++	++	++	++	++	++	++	—	
(15 min.)											

As soon as crystals formed in the freezing tubes, the tubes were removed to room temperature, and as the crystals dissolved, flocculation was evident at once, the whole process occupying but a few minutes. Control tubes with normal serum were negative. The high temperature tubes showed agglutination even more rapidly, and in higher dilutions. The difference in the age of the cultures used for suspensions in these

1) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLV. 1903. p. 93.  
2) Centralbl. f. Bakt. XXXVI. 1904. p. 677.  
3) Cf. Beyer and Reagh, Journ. Med. Res. Vol. XII. 1904. p. 313.

two experiments probably had no effect, as is shown by the results at 23°.

A simple explanation of these phenomena suggested itself when the process of agglutination was noted in tubes placed suddenly at high or low temperature. The convection currents, plainly to be seen as the tubes are taken out of the water and held to the light, seem, as they pass up the sides of the glass and down in the center, actually to roll up the clumps of bacilli, which grow rapidly larger and larger as the fluid clears. The fact that both high and low temperatures act almost equally well seems to indicate that the mechanical influence of the currents induced by rapid change of temperature serves to mix serum and bacilli with a motion so steady and uniform that flocculation is aided, rather than retarded as it would be by shaking.

Tubes allowed to stand at room temperature until agglutination was complete, then placed at 55°, showed no further agglutination, i. e., a dilution of 1:20 000 remained + instead of becoming +++.

Unlike the results of Weil<sup>1)</sup> the heating of culture and serum separately for 30 minutes at 55° seemed to produce the effect only of delaying the process of agglutination and of causing an inhibition zone in the low dilutions.

Table IV.

	40	200	500	1000	2000	4000	8000	10 000	20 000
15 min. at 23°.									
I. Cult. fresh, serum fresh	+	+	+	+	—	—	—	—	—
II. " " " heated	—	—	—	—	—	—	—	—	—
III. " heated " fresh	—	—	—	—	—	—	—	—	—
IV. " " " heated	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30 min., 23°.									
I.	++	+++	+++	+++	+++	++	+	—?	+
II.	+	++	++	++	++	++	+	+	+
III.	+	—	—	—	—	—	—	++	—
IV.	+	—	—	—	—	—	—	—	—
3 hours, 23°.									
I.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	—?	++
II.	++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++
III.	+	++	++	++	++	++	+	+	—
IV.	+	++	+++	++	++	++	+	+	+

#### IV. Fresh and formalinized cultures.

Ruediger<sup>2)</sup> found that formalinized and stored broth cultures of *B. typhosus* served as well for agglutination tests as fresh cultures or were even better. In my work this method was found useful particularly for cultures in which the growth was flaky and with which it was difficult, except by much shaking, standing, and filtering, to obtain a uniform suspension. A comparison of a fresh and a formalinized suspension of such a culture, *B. amylo-ruber*, is seen in Table V. Three agar cultures were suspended in 40 ccm of NaCl solution, and one per cent formalin was added to make the formalinized suspension, was which then allowed to stand for several days. Both this and the fresh emulsion were filtered when tested.

1) loc. cit.

2) Journ. Infect. Dis. 1904. Vol. I. p. 236.

Table V.

B. Amyloruber.

4 hours, 37°.

Rabbit ser., 5 inoc.

	40	200	500	1000	1500	2000	10 000	20 000
Fresh cult.	++	+++	+++	+++	+++	+++	++	—
For. cult.	++	++	+++	+++	+++	+++	+	—
Controls	—	—	—	—	—	—	—	—

However, a difference in results was found when formalin was added immediately before the agglutination test. Forty eight hour agar cultures were used for the suspensions, the "old for. cult." having been prepared a week before the experiment (Table VI).

The peculiar inhibition by freshly added formalin is interesting in comparison with the results of Buxton and Vaughan, which pointed to the conclusion that formalinized cultures were more resistant to the action of heat, i. e., that the formalin served to fix the receptors more firmly to the cell body. Experiments are under way to determine more exactly the action of formalin in agglutination.

Table VI.

Prod. VI cult. and serum.

	40	500	1000	2000	4000	8000	10 000	20 000	40 000
15 min., 23°.									
I. Fresh cult.	+	+	+	+	+	+			
II. New for. cult.	—	—	—	—	—	—			
III. Old for. cult.	++	++	—	—	—	—			
1 hour.									
I.	++	++	++	++	++	++			
II.	+	+	?	—	—	—			
III.	+++	+++	+++	++	+	—			
3 hours.									
I.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—
II.	+	+	?	—	—	—	—	—	—
III.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	—

The same difference was observed at high and at low temperatures.

Table VII.

prod. VI cult. and serum.

Ser. dilution 1:1000.

	37°	55°	0°
10 min.			
I. Fresh cult.	+	++	++
II. New for. cult.	—	—	—
III. Old for. cult.	+	++	++
1/2 hour.			
I.	++	+++	++
II.	—	—	—
III.	++	+++	++

### Summary.

Agglutinative tests on a series of organisms more or less like *B. prodigiosus* show

1) A high degree of interaction among the members of the group which are clustered together by the sugar fermentation test.

2) Identity of reaction of races known to have been derived from the same culture eight or ten years previously and kept in different laboratories.

3) Agglutinative reaction among members of the group which tend to lose the power of pigment formation, including one race which produces only a soluble red pigment. No reaction was obtained in this case with *B. fluorescens liquefaciens* or *B. lactis erythrogenes*.

4) Much confusion and inequality of interaction among other members of the group closely related biologically.

The difference between agglutinogenic power and agglutinability is clearly due in some cases to a viscid capsular condition of the bacilli. On the other hand, readily agglutinable cultures do not possess correspondingly high agglutinogenic power.

Experiments made to determine the optimum temperature for the agglutinative process show that better results are obtained at either 0° or 55° C than at room temperature or at 37° C. The action of convection currents is suggested as explanation of this.

The addition of 1 per cent formalin to salt solution suspensions of cultures makes no difference in the agglutinative results, if the cultures thus formalinized be allowed to stand for some time. Freshly added formalin seems to inhibit agglutination.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber die Regeneration der Agglutinine nach Blutverlusten.

[Aus dem Institute für allgemeine und experimentelle Pathologie in Wien (Vorstand Prof. Paltauf).]

Von Privatdozent Dr. **C. Jul. Rothberger**, Assistent am Institute.

Mit 1 Kurve.

(Schluß.)

Endlich will ich noch erwähnen, daß Fränkel und Otto bei einem Hunde, den sie mit enormen Mengen von Ty-Kultur gefüttert hatten, nach einer starken Nachblutung Abnahme des Agglutinationsvermögens des Serums beobachteten, obwohl die Fütterung mittlerweile fortgesetzt worden war. Sie empfehlen auf Grund dieses Befundes, bei Typhus-kranken nach dem Eintritte von Darmblutungen, wieder die Widalsche Reaktion vorzunehmen, um zu sehen, ob auch beim Menschen die „Schädigung des Ernährungszustandes“ analoge Folgen habe.

In neuester Zeit hat denn auch Lentz eine derartige Beobachtung veröffentlicht: Bei einem 28-jähr. Mädchen, welches unter Mattigkeit, Durchfall, Blutbrechen, blutigen Stühlen und remittierenden, dann kontinuierlichem Fieber erkrankt war, war am 25. Krankheitstage Widal negativ, während im Stuhle Ty-Bacillen nachweisbar waren. Am 28. Tage starke Darmblutung, darnach Kollaps, von dem sich Pat. aber wieder erholt: Widal war jetzt positiv. „Es war also hier im Anschlusse an eine am 28. Krankheitstage aufgetretene Darmblutung die vorher nicht nachweisbare Widalsche Reaktion eingetreten“. Einen ähnlichen Fall

soll Leube beobachtet haben. Lentz meint, daß in seinem Falle die Darmblutung zur Bildung von Agglutininen geführt habe und sagt, die Blutung habe überhaupt den Krankheitsverlauf günstig beeinflußt und den günstigen Ausgang vorbereitet. Er bestätigt ferner die Angabe von Pfeiffer, daß sich bei Pneumonie sehr häufig an einen Aderlaß die Krisis anschließt.

Meine Versuche, welche ausschließlich an Kaninchen ausgeführt worden sind, hatten den Zweck, zu ermitteln, wie sich der Gehalt des Blutes an Typhusagglutinin nach der Entfernung eines großen Teiles desselben durch den Aderlaß verhalte<sup>1)</sup>.

Es wurden zu diesem Behufe 22 Kaninchen mit abgetöteten Typhusbacillen vorbehandelt. Bei 9 Tieren wurde dann durch den Blutwechsel ein Teil ihres Blutes durch agglutininfreies Normalblut ersetzt, an 7 Kaninchen wurde der einfache Aderlaß vorgenommen, die übrigen 6 Kaninchen dienten als Kontrolltiere. Der Agglutiningehalt des Blutes wurde, erst in kürzeren, später in längeren Intervallen, untersucht.

Zur Immunisierung verwendete ich bei den ersten 5 Tieren bei 60° abgetötete Typhusagargulturen, bei den übrigen Kulturen ein dem Fickerschen Typhusdiagnostikum analoges Präparat, welches ja auch abgetötete Typhusbacillen enthält und außerdem den Vorteil eines gleichmäßigen Präparates besitzt, welches man sich in beliebigen Mengen vorrätig halten kann. Es kamen ausschließlich subkutane Injektionen in Anwendung.

Ich gab auf einmal höchstens eine abgetötete Agarkultur und begann die Immunisierung meist mit  $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{10}$  dieser Menge. Vom Typhusreagens injizierte ich anfangs 3—5, zum Schlusse bis zu 20 ccm. Im ganzen erhielt ein Tier ca. 30—40 ccm vom Reagens. Da sich gar kein Unterschied ergeben hat zwischen den mit Agarkulturen und den mit Typhusreagens behandelten Tieren, so werde ich im folgenden die bei ihnen beobachteten Erscheinungen gemeinsam besprechen.

Der Blutwechsel wurde in folgender Weise vorgenommen: Das immunisierte Tier und der Blutspender wurden nebeneinander aufgebunden, dem ersteren die Vena jugularis und die Art. carotis, dem letzteren nur die Carotis frei präpariert. Dann wurde die Carotis des Blutspenders mit der Jugularis des Immuntieres durch eine sterile, mit Kochsalzlösung gefüllte breit U-förmig gebogene Kanüle verbunden, die entsprechenden Blutgefäße blieben aber vorläufig noch abgeklemmt. Dann wurde auch die Carotis des Immunkaninchens mit einer sterilen Kanüle versehen und durch diese dem Tier so viel Blut entzogen, bis Erstickungskrämpfe auftraten (30—60 ccm bei Kaninchen von 1100—2000 g), dann wurde die Carotis geklemmt und durch Abnahme der Klemme von der Carotis des Blutspenders die Transfusion eingeleitet, deren Dauer sich nach der dem Immuntier entnommenen Blutmenge und der nach dem Gewicht des Spenders geschätzten Gesamtblutmenge der letzteren richtete. Meist starb der Blutspender kurz nach der Transfusion und es dürfte, wie ich noch weiter unten auseinandersetzen werde, in diesen Fällen eine Ueberkompensation des dem Immuntier zugefügten Blutverlustes stattgefunden haben.

1) Das vorläufige Resultat dieser Untersuchungen, welche mich seit mehr als 2 Jahren beschäftigten, hat Herr Prof. Paltauf bereits in seiner Monographie über die Agglutination erwähnt.

5 Minuten nach dem Schlusse der Blutüberleitung wurden dem Immun-tier noch einige Kubikzentimeter Blut entnommen, um feststellen zu können, wie stark der Agglutininverlust war. Zum Schluß wurden dann beide Tiere neuerdings abgewogen. Ich habe nur in einem Falle nach dem Vorgange von Decroly und Ronsse auf den ersten Aderlaß Kochsalzlösung einfließen lassen, dann wieder bis zu Erstickungskrämpfen entblutet und dann erst die Bluttransfusion eingeleitet; die hierzu erforderliche Anordnung kompliziert immerhin den ohnehin heiklen Versuch, und der auf die oben geschilderte Weise erzielte Antikörperverlust ist beträchtlich genug; auf möglichst vollständige Entfernung der Agglutinine kommt es ja nicht an.

Der an 7 Tieren (Gewicht 1600—1700 g) vorgenommene einfache Aderlaß betrug 25—35 ccm, war demnach sehr ausgiebig. Die am nächsten Tage entnommene Blutprobe zeigte die deutliche Verwässerung des Blutes. Nur in einem Falle habe ich dem Tier nur 10 ccm Blut entzogen, um auch die Wirkung eines geringen Blutverlustes zu sehen. Die Kontrolltiere wurden in gleicher Weise behandelt wie die anderen, indem je ein Kontroll- und ein zum Aderlaß bestimmtes Tier an demselben Tage gleich starke Injektionen erhielten und immer zugleich zur Entnahme von Blutproben vorgenommen wurden. Zu diesem Behufe wurden die Tiere aufgebunden, der Hals rasiert und nach Freilegung einer Jugularis eine ausgeglühte Platiniridium-Hohnadel eingestochen; das Blut (2—3 ccm) wurde in kleinen sterilen Epruvetten aufgefangen. Zur nächsten Blutentnahme wählt man die Vene der anderen Seite. Mit den beiden Jugulares kommt man für alle notwendigen Blutentnahmen aus. Eine Nachblutung findet meist nicht statt, da sich die Stichöffnungen rasch verlegen. Der Eingriff muß nicht aseptisch vorgenommen werden, nur empfiehlt es sich, den Hals der Kaninchen zu rasieren.

Die Prüfung der agglutinierenden Fähigkeit des Serums nahm ich zuerst an Kulturaufschwemmungen mit starken Trockenlinsen vor, dann wendete ich auch hier ausschließlich das Typhusdiagnostikum an, da demselben die oft hervorgehobenen Vorzüge der makroskopischen Prüfung zukommen. Insbesondere ist hier die Eindeutigkeit des Ergebnisses hervorzuheben, während eine genauere Grenzbestimmung mit der mikroskopischen Methode besonders bei hochwertigen Seren oft dadurch erschwert ist, daß bei einer größeren Reihe fortschreitender Verdünnungen ein und dasselbe Bild der Pseudoagglutination zu kleinsten, nur aus 3—4 Bacillen bestehenden Häufchen sich darbietet, wobei auch noch mehr oder weniger zahlreiche Bacillen ihre Beweglichkeit beibehalten haben. Die eindeutige Abgrenzung dieser Pseudoagglutination gegen die durch Bildung großer Haufen charakterisierte echte Agglutination konnte ich oft auch durch Verwendung schwacher Linsen nicht mit genügender Sicherheit erzielen. Demgegenüber hat die makroskopische Methode den großen Vorteil, daß die Grenze ohne weiteres sicher und leicht erkennbar ist. Der, übrigens noch nicht sicher festgestellte Umstand, daß die makroskopische Prüfung niedrigere Werte liefert, ist natürlich hier belanglos, da es ja nur auf Ermittlung relativer Werte ankommt.

Der Vergleich der Sera der verschiedenen Tiere am Ende der Immunisierung (vor dem Aderlaß bzw. Blutwechsel) zeigte wieder die schon oft betonte Tatsache, daß mit gleichen Mengen vorbehandelte Kaninchen außerordentlich verschiedene Mengen Agglutinin bilden können. Als Beispiel führe ich die Tiere 306 und 333 an, welche immer zugleich

mit denselben Mengen Typhusreagens injiziert worden waren. Das Serum des einen Kaninchens agglutinierte 1:7000, das des anderen nur 1:1600. Beide Tiere waren gleich schwer. Die von mir erzielten Agglutinationswerte schwanken zwischen 1:600 und 1:11000, bewegen sich jedoch meist um 1:3000 herum.

### Kontrolltiere.

Was nun zunächst den Verlauf der Agglutininbildung bei den Kontrolltieren betrifft, so kann ich die oben angeführten Befunde der früheren Autoren in allen wesentlichen Punkten bestätigen.

Nach einmaliger Injektion von 5 ccm Typhusreagens bei 2 Kaninchen zeigte sich schwache Agglutination am 3.—4. Tage, dann erfolgte rascher Anstieg der agglutinierenden Fähigkeit des Serums in beiden Fällen bis 1:800. Beide Tiere starben zufällig am 10. bzw. 11. Tage nach der Injektion. Die anderen Kontrolltiere, denen die Blutproben erst nach längerer Immunisierung entnommen werden, zeigen, daß der Höhepunkt der Agglutininbildung am 13.—14. Tage nach der Injektion eintritt, ein Verhalten, welches, wie ich später auseinandersetzen werde, sich mit großer Regelmäßigkeit auch bei den anderen Tieren zeigte. Nur bei einem Kaninchen (333), welches auch bezüglich der hohen agglutinierenden Kraft seines Serums eine Sonderstellung einnimmt, fand ich nach der letzten Injektion einen sehr steilen Anstieg des Agglutinationsvermögens mit dem Höhepunkt am 4. Tage.

Ich erinnere daran, daß Jörgensen und Madsen bei Immunisierung mit Typhuskultur das Maximum schon am 8.—10. Tage fanden; dagegen stellt sich nach Deutsch der Höhepunkt der Antitoxinproduktion nach Typhusinjektionen am 11.—12. Tage ein und ebenso erreicht die Agglutinationskurve am 10.—13. Tage ihr Maximum. Levin fand den Höhepunkt der Agglutininbildung nach Immunisierung mit Coli erst am 17. Tage nach der letzten Injektion.

Nach Erreichung des Maximums sinkt die agglutinierende Fähigkeit des Serums erst rascher, dann langsamer ab; doch konnte auch ich in einzelnen Fällen selbst mehrere Monate nach der letzten Injektion noch schwache Agglutination feststellen.

### Blutwechsel.

In welcher Weise wird nun diese schon von mehreren Autoren in übereinstimmender Weise beschriebene Kurve durch den Blutwechsel beeinflußt? Vor allem wird eine große Menge agglutininhaltigen Blutes durch agglutininfreies Blut ersetzt, es wird also die Menge des in der Blutbahn zurückbleibenden Agglutinins auf die ganze, durch die Transfusion annähernd wiederhergestellte Blutmenge verteilt, es muß daher der Agglutiningehalt des Serums nach dem Blutwechsel abnehmen. Das ist auch, wie aus folgender Tabelle hervorgeht, stets der Fall.

Wenn, wie die folgende Tabelle zeigt, der Verlust an Agglutinin prozentuell nicht mit dem Verlust an agglutininhaltigem Blute übereinstimmt, so rührt das daher, daß die beim Aderlaß entnommene Blutmenge durch die Transfusion nicht genau ersetzt wurde; es fehlte ja auch jeder Anhaltspunkt für die Feststellung des Zeitpunktes, in welchem der Verlust gerade kompensiert war. Da nun der Agglutiningehalt des Blutes durch den Aderlaß allein nicht sofort geändert wird, so hängt die agglutinierende



Kaninchen	Entzogene Blutmenge		Agglutination (obere Grenze)		Abfall in Proz.
	in ccm	in Proz. der Gesamtmenge	vor dem Blutwechsel	nach dem Blutwechsel	
Dunkelgrau	30	26	3000	1200	60
Schwarz A	30	34	1000	500	50
" B	55	46,6	3000	1100	63,3
Weißgrau	55	46,6	600	400	33,3
Langhaarig					
Weißgrau	50	32,4	2800	1800	35,6
Kurzhaarig					
Weißgelb	38	38	5000	2000	60
Silbergrau	45	40	8000	5200	35
Grau	45	40	6000	4000	33,3

Kraft, welche das Serum am Ende der Transfusion besitzt, davon ab, ob das Immuntier mehr Blut hat als vor dem Aderlaß, oder weniger. Im ersteren Falle muß der perzentuelle Verlust an Agglutinin größer sein als der Blutverlust, im letzteren Falle kleiner.

Der weitere Verlauf der Kurve des Agglutiningehaltes des Serums hängt nun davon ab, wie viel Zeit zwischen der letzten Injektion und dem Blutverlust verstrichen war: Man kann im allgemeinen sagen, daß ein Anstieg des Agglutiningehaltes zu erwarten ist, wenn dieses Intervall kleiner ist als 14 Tage; und zwar ist der Anstieg gewöhnlich steiler, wenn der Blutwechsel rasch auf die letzte Injektion folgt. In der nachstehenden Tabelle stelle ich die betreffenden Zahlen zusammen:

Kaninchen	Agglutination (obere Grenze)			Intervall (Tage)	
	vor dem Blutwechsel	nach	auf der Höhe des Anstieges	zwischen letzter Injektion und Blutwechsel	zwischen letzter Injektion und Maximum der Agglutination
Weißgelb	5000	2000	4000	1	7
Schwarzbraun	1900	1000	5200	3	11+
Weißgrau kurzhaarig	2800	1800	2800	5	9
" langhaarig	600	400	800	6	14+
Dunkelgrau	3000	1200	2000	7	13
Schwarz B	3000	1100	1800	7	14
Silbergrau	8000	5200	6000	7	14
Schwarz A	1000	500	600	9	12
Grau	6000	4000	3200	14	—

Unter diesen 9 Kaninchen ist demnach nur ein einziges, bei welchem der Blutwechsel von einem weiteren Abfall des Agglutiningehaltes gefolgt war, und es ist auch das einzige, bei welchem erst 14 Tage nach der letzten Injektion der Blutwechsel vorgenommen worden war. Alle anderen Tiere zeigen einen zum Teil sehr beträchtlichen Anstieg ihres Agglutiningehaltes, welcher am 12.—14. Tage seinen Höhepunkt erreicht; nur bei 2 Tieren fällt dieser auf den 7. bzw. 9. Tag nach der letzten Injektion.

Was nun die Intensität dieser Agglutininreproduktion anlangt, so zeigt uns die Tabelle, daß die agglutinierende Kraft des Serums selbst auf der Höhe des Anstieges in den meisten Fällen noch immer geringer war als vor dem Blutwechsel. Bei einem Tier wurde das frühere Niveau erreicht, bei einem anderen sogar erheblich überstiegen; allerdings hatte

ich gerade bei diesem letzteren mit Agarkulturen vorbehandelten Kaninchen die Prüfung der agglutinierenden Kraft des Serums mit einer starken Trockenlinse vorgenommen.

Kann es auch somit keinem Zweifel unterliegen, daß nach dem Blutwechsel eine deutliche Neubildung von Agglutinin stattgefunden hat, so ist es doch noch fraglich, ob diese Regeneration die Folge des Blutwechsels ist. Hier mußte nun vor allem auffallen, daß die Dauer des Anstieges sich so nach dem Zeitpunkt richtete, zu welchem der Blutwechsel vorgenommen worden war, daß der Höhepunkt auf den 12.—

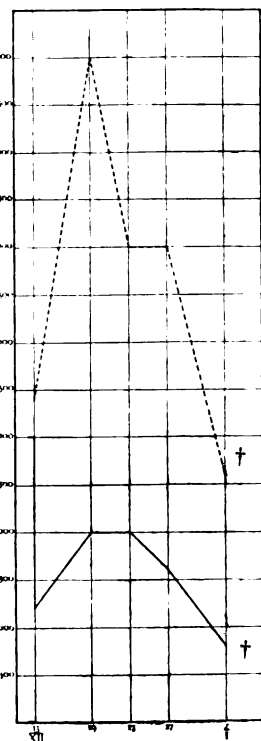
Kaninchen	Anstieg		Intervall zwisch. letzter Injektion und Maximum d. Agglutination	Bemerkungen
	von	auf		
Weißschwarz	0	800	8 Tage	Eine Injektion (5 cem) dto.
Weißgrau	0	800	> 10 "	
Lichtgelb	3400	7 000	13 "	
	(7 Tage nach der letzten Injektion)			
Weiß	3000	4 200	14 "	
	(9 Tage nach der letzten Injektion)			
Hellbraun	1800	2 200	14 "	
	(9 Tage nach der letzten Injektion)			
333	7000	16 000	4 "	
	(1 Tag nach der letzten Injektion)			

14. Tag nach der Injektion fiel; es lag demnach nahe, anzunehmen, daß der Anstieg nicht die Folge des Blutwechsels sondern vielmehr der letzten Injektion sei. Die Bestätigung dieser Annahme brachten die Kontrollversuche, welche ich in vorstehender Tabelle zusammenstelle.

Wenn wir von den ersten beiden Tieren absehen, welche starben, als die Kurve noch im Anstieg war, so sehen wir, daß auch beim Kontrolltier auf die letzte Injektion ein meist durch 13—14 Tage anhaltender bedeutender Anstieg der Agglutininbildung folgt.

Als Beispiel diene die beigefügte Kurve, welche den Verlauf der Agglutininbildung bei einem dem Blutwechsel unterworfenen und dem dazu gehörigen Kontrolltier zeigt. In der Kurve des ersteren entspricht der am 13. Dez. verzeichnete jähe Abfall dem Agglutininverlust durch den Blutwechsel. Bei beiden, ganz gleich vorbehandelten Tieren, deren Sera zufällig gleich stark agglutinierten, tritt der Höhepunkt des Anstieges an demselben Tage ein.

Die nach dem Blutwechsel auftretende Neubildung von Agglutinin ist demnach nicht als eine Regeneration des verlorengegangenen aufzufassen; sie ist die Folge des durch die letzte Injektion auf die agglutinin-



bildenden Organe ausgeübten Reizes. Dieser bewirkt eine durch 13—14 Tage anhaltende Neubildung von Agglutinin, welche auch nach dem Blutwechsel fort dauert, wenn dieser innerhalb dieser Zeit vorgenommen wird; macht man den Blutwechsel später, so bleibt auch die Neubildung aus, es folgt vielmehr ein erst rasch, dann langsam fortschreitender Agglutininverlust, wie bei dem Kontrolltier zu derselben Zeit. Die Veränderung, welche die Kurve der agglutinierenden Kraft des Serums durch den Blutwechsel erfährt, besteht demnach nur darin, daß sie von dem Tage der Operation an auf ein niedrigeres Niveau herabgedrückt wird. Es folgt weiter daraus, daß der durch den Blutwechsel herbeigeführte Verlust an Agglutinin nicht als Reiz auf die Agglutininbildung wirkt; vielmehr sind keine Anhaltspunkte dafür vorhanden, daß der Gang der Agglutininbildung durch den erlittenen Verlust irgendwie beeinflußt wird.

### Aderlaß.

Ich gehe nun zur Besprechung derjenigen Versuche über, in welchen ich statt des Blutwechsels den Aderlaß am immunisierten Tiere ausführte.

Zur Beantwortung der zweiten eingangs aufgeworfenen Frage hätte man den Aderlaß auch vor der Immunisierung machen und untersuchen können, ob stark anämisch gemachte Tiere mehr Agglutinin bilden als normale (siehe Versuch 1 von Dörner bezüglich Hämolsinbildung). Doch sind, wie ich oben erwähnt habe, die individuellen Schwankungen in der agglutininbildenden Kraft der einzelnen Kaninchensera so bedeutend, daß ein Vergleich der absoluten Agglutinationshöhen aussichtslos erscheinen muß. Ich habe mich daher darauf beschränkt, zu untersuchen, ob zugleich mit der Regeneration des verlorenen Blutes auch ein Wiederersatz des verlorenen Agglutinins einhergehe.

Ich stelle die betreffenden Versuche in der folgenden Tabelle zusammen:

Kaninchen	Entzogene Blutmenge		Intervall zwischen Aderlaß und letzter Injektion	Kurve nach dem Aderlaß	Intervall zwischen Maximum und letzter Injektion
	in ccm	in Proz.			
83	30	24,4	2	Anstieg von 1400 auf 4500	12
144	25	20	2	Abfall von 3000 auf 2400, dann Anstieg auf 3200	9
280	33	23	7	Abfall von 2800 auf 1400	—
340	25	21	6½	Abfall von 1800 auf 400	—
349	35	13	14	Abfall von 1600 auf 1400, dann Anstieg auf 2000	19
424	30	21,4	13	Abfall von 3400 auf 2400, dann Anstieg auf 3400	17
306	10	8,1	2	Abfall von 1600 auf 1200	—

Man sieht, daß die beiden ersten Tiere sich so verhalten, wie wir es beim Blutwechsel gesehen haben: der 2 Tage nach der letzten Injektion vorgenommene Aderlaß ist bei Kaninchen 83 von einer beträchtlichen Agglutininproduktion gefolgt, welche am 12. Tage ihren Höhepunkt erreicht. Sie ist, wie ich oben auseinandergesetzt habe, als Folge der kurz vorhergegangenen Injektion aufzufassen. Die Tatsache, daß der Agglutiningehalt des Serums bei diesem Tier 24<sup>h</sup> nach dem Aderlaß

schon gesteigert war, spricht für die große Intensität der Agglutininproduktion, da man wegen der innerhalb der ersten 24<sup>h</sup> eintretenden Verwässerung des Blutes eine Herabsetzung des Agglutiningehaltes des Serums erwarten mußte, wie sie ja auch bei allen anderen Tieren eingetreten ist. Bei Kaninchen 144, welches ebenfalls 2 Tage nach der Injektion zur Ader gelassen wurde, erfolgt nur Wiederanstieg auf das frühere Niveau.

Bei den Kaninchen 280, 340 und 306 erfolgte kein Anstieg der Kurve, obwohl nach den beim Blutwechsel gemachten Erfahrungen Neubildung von Agglutinin zu erwarten gewesen wäre, da erst 2 bzw. 6 $\frac{1}{2}$  und 7 Tage seit der letzten Injektion verstrichen waren. Dagegen bilden die Kurven der Kaninchen 349 und 434 insofern Ausnahmen, als sie nach vorübergehendem Abfall ein Wiederanstiegen des Agglutiningehaltes mit auffallend spätem Höhepunkt zeigen.

Im großen und ganzen stimmen die mit dem Aderlaß gemachten Versuche darin mit den vorher besprochenen überein, daß auch sie keine Steigerung der Agglutininbildung durch den vorgenommenen Eingriff erkennen lassen. Wenn die hier beobachtete Kurve gegenüber der Kurve nach dem Blutwechsel gewisse Abweichungen zeigt, so mag das darin liegen, daß der Organismus der verschiedenen Tiere auf die nicht unbeträchtliche Blutentziehung verschieden reagierte. Das ergibt sich vor allem daraus, daß der prozentuelle Verlust an Agglutinin mit dem Blutverlust nicht übereinstimmt, wie nachstehende Tabelle zeigt.

Kaninchen	Proz. Verlust an	
	Blut	Agglutinin
83	24,4	0
144	20	20
280	23	50
340	21	78
349	13	12,5
424	21,4	29,4
306	8,1	25

Man sieht, daß besonders die Kaninchen 280, 340 und 306 unverhältnismäßig schwere Verluste an Agglutinin erlitten haben, welche auch nicht einmal teilweise ausgeglichen werden, denn bei diesen Tieren fand kein Wiederanstiegen der Kurve statt. Bei den anderen Kaninchen entspricht der Verlust an Agglutinin ungefähr dem Blutverlust, und da finden wir auch stets Neubildung von Agglutinin. Diese ist bei Kaninchen 83 so intensiv, daß sie bald zu einer bedeutenden Ueberkompensation des Verlustes führt.

Konnten wir beim Blutwechsel die auch dort zutage tretende Nichtübereinstimmung des Agglutininverlustes mit dem Blutverlust auf die in ziemlich willkürlichen Grenzen gehaltene Transfusion zurückzuführen, so müssen wir hier für dieselbe Erscheinung andere Ursachen suchen. Bekanntlich wird nach Blutverlusten, welche  $\frac{1}{3}$  der Gesamtmenge nicht überschreiten, das Volumen schon nach kurzer Zeit, jedenfalls innerhalb 24<sup>h</sup> wiederhergestellt, wobei eine dem Blutverluste entsprechende Hydrämie eintritt; die verloren gegangenen zelligen Elemente des Blutes werden ja erst ganz allmählich, im Laufe der nächsten Wochen, ersetzt. Man könnte also zunächst auch hier für die unverhältnismäßig großen Verluste an Agglutinin eine abnorm gesteigerte Hydrämie verantwortlich machen. Aber schon die nähere Ueberlegung zeigt die Unmöglichkeit

dieser Erklärung, da eine Hydrämie, durch welche der bei Kaninchen 340 beobachtete Agglutininverlust vorgetäuscht werden könnte, nicht vorkommen kann. Es bleibt daher nur die schon oben gemachte Annahme übrig, daß die Blutentziehung unter den verschiedenen Funktionen des Organismus auch die Agglutininbildung in einer von Fall zu Fall verschiedenen, vorher nicht erkennbaren Weise beeinflußt. Ähnlich sprechen sich ja auch Salomonsen und Madsen bezüglich ihrer Erfahrungen mit dem Aderlaß bei Diphtheriepferden aus. Auch sie fanden einen durch die Hydrämie allein nicht erklärbaren Abfall des Antitoxingehaltes und nehmen an, daß die akute Anämie einen schädlichen Einfluß auf die Antitoxinbildung im Körper ausübe.

Wir müssen demnach sagen, daß die nach dem Aderlaß eintretende erhöhte Tätigkeit der blutbildenden Organe keinen gleichsinnigen Einfluß auf die Agglutininbildung ausübt, welche sich nach diesem Eingriffe in vorher nicht erkennbarer, von Fall zu Fall wechselnder Weise vollzieht, jedoch keinesfalls eine Steigerung durch den Blutverlust erfährt. Ein weiteres Ansteigen des Agglutiningehaltes nach dem Aderlaß muß mit Rücksicht auf die Kontrollversuche als eine noch fortdauernde Folge der letzten Injektion angesehen werden.

---

Verhalten sich nun die Agglutinine nach Blutentziehungen grundsätzlich anders als die übrigen Antikörper? Die im Laufe der vorangehenden Erörterungen zitierten Befunde anderer Autoren lassen das sehr zweifelhaft erscheinen und es wäre ja auch sehr merkwürdig, wenn die Agglutinine eine Sonderstellung unter den übrigen Immunsustanzen einnehmen würden. Ein von mir bereits mehrfach betonter Umstand ist meines Erachtens bisher nicht genügend berücksichtigt worden, nämlich das Intervall zwischen letzter Injektion und dem Aderlaß. Man kann nur dann sagen, daß die Blutentziehung eine Steigerung der Antikörperproduktion bewirkt habe, wenn der Gehalt des Blutserums an der betreffenden Immunsustanz vor dem Aderlaß konstant war, also hinreichend lange Zeit nach der letzten Injektion verstrichen ist. Ich kenne nur einen nach dieser Richtung hin einwandfreien Versuch, nämlich den von Salomonsen und Madsen, in welchem eine gegen Diphtherie immunisierte Ziege nach 4 ausgiebigen Blutwechseln 3 Monate nach der letzten Injektion einen starken Wiederanstieg des Antitoxingehaltes zeigte.

Einen günstigen Einfluß des Aderlasses auf die Immunkörperproduktion nahmen Pfeiffer sowie Friedberger und Dorner an. Die nicht veröffentlichten Versuche Friedbergers, welche Pfeiffers Angabe zu Grunde liegen, entziehen sich der Beurteilung, doch müssen wir auf Dorners Versuche noch zurückkommen. Diese 6 Versuche, welche an 18 Kaninchen ausgeführt sind, kombinieren Aderlaß und Injektion von Ziegenblut in verschiedener Weise. Der Aderlaß ging der Injektion voraus oder folgte erst auf diese, in anderen Versuchen wurde nach der Blutentziehung wieder injiziert und dann wieder ein Aderlaß vorgenommen. Bestimmt wurde die lösende Kraft am Normalserum und einmal am Immunserum, 8 Tage nach der Injektion. So bot sich zum Vergleich einerseits die absolute lösende Kraft der einzelnen Sera untereinander und andererseits die lösende Kraft des Immunserums mit der des Normalserums desselben Tieres (relativer Anstieg der Hämolysin-

bildung) und beide Arten des Vergleiches zeigten dem Verfasser eine bedeutende Steigerung der Hämolysinbildung durch den Aderlaß. Gegen diese Schlußfolgerung ist nun vor allem einzuwenden, daß eine einmalige Prüfung der lösenden Kraft des Serums nicht hinreicht, um einen verlässlichen Aufschluß über die Hämolysinbildung zu erhalten, deren Kurve bei Kontroll- und Aderlaßtier zeitlich ganz verschieden verlaufen kann. Die von Dorner veröffentlichten Versuche scheinen mir daher schon aus diesem Grunde die günstige Wirkung des Aderlasses nicht zu beweisen. Die für den relativen Anstieg der Hämolysinbildung angeführten Zahlen sind überdies ziemlich willkürlich aus den Tabellen herausgerechnet, und endlich zeigen die Werte für die absolute Lösungskraft der Sera bei Kontroll- und Aderlaßtieren keine entscheidenden Differenzen.

Ausgedehntere Versuchsreihen, als sie bisher vorliegen, müßten uns zuerst darüber belehren, ob die Produktion verschiedener Antitoxine durch den Aderlaß eine Steigerung erfährt, bevor wir mit Recht behaupten dürfen, daß diese letztere Wirkung den Hauptwert des Aderlasses als therapeutischen Eingriffs bei Infektionskrankheiten ausmache.

#### Literatur.

- 1) Brieger u. Ehrlich, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XIII. 1893. p. 336.
- 2) Bulloch, zit. nach Jörgensen u. Madsen.
- 3) Décroly u. Ronsse, Arch. internat. de pharmacodyn. et de thérapie. T. VI. 1899. p. 211.
- 4) Dean, zit. nach Jörgensen u. Madsen.
- 5) Deutsch, Annales de l'inst. Past. 1899. p. 689.
- 6) Dorner, Exper. Beiträge zur Kenntnis der Hämolysine. Diss. Königsberg, 1906.
- 7) Forsemann u. Lundström, zit. nach Jörgensen u. Madsen.
- 8) Fränkel u. Otto, Münch. med. Wochenschr. 1897. p. 1065.
- 9) Friedberger u. Dorner, Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XXXVIII. 1905. p. 544.
- 10) Jörgensen u. Madsen, Festschr. f. Salomonsen. Kopenhagen 1902.
- 11) Lentz, Klin. Jahrb. Bd. XIV. 1905.
- 12) Levin, Festschr. f. Salomonsen. Kopenhagen 1902.
- 13) Morgenroth, zit. nach Jörgensen u. Madsen.
- 14) Paltauf, Handb. der pathog. Mikroorg. herausgeg. v. Kolle und Wassermann. Bd. IV. 1904. p. 676.
- 15) Pfeiffer, Centralbl. f. Bakt. Ref. Bd. XXXV. 1904. p. 227.
- 16) Roux u. Vaillard, Annales de l'inst. Past. T. VII. 1893. p. 65.
- 17) Rostoski, Verh. d. phys.-med. Ges. z. Würzburg. N. F. Bd. XXXV. 1903. p. 15.
- 18) Salomonsen u. Madsen, Annales de l'inst. Past. T. XII. 1898. p. 763 und T. XIII. 1899.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber die Wirkung der bakteriologischen Heilsera bei wiederholten Injektionen.

[Aus dem k. Institut für Infektionskrankheiten in Tokio. Direktor:  
Prof. Dr. S. Kitasato.]

Von Dr. G. Shibayama, Abteilungsvorsteher im Institut.

Die Frage von der Dauer der passiven Immunität ist von vielen Seiten (1, 2, 3, 4) experimentell untersucht worden. Bei der Verwendung heterologen Diphtherieserums geht die Immunität in kurzer Zeit, gewöhnlich innerhalb 2—3 Wochen, wieder verloren, während bei

Impfung mit homologem Serum sie länger anhält. Die passive Immunität von Tetanusantitoxin des heterologen Serums dauert auch höchstens 4–6 Wochen lang (5, 6). Monatlang dauert dagegen eine Immunität von Pferden bei Einverleibung des Tetanusserums, das von Pferden her stammt (7) (8). Die Rinderpestimmunität bei Injektion des Rinderpestserums, welches natürlich von Rindern herrührt, dauert sehr lange. So konnte ich durch eigene Versuche bestätigen, daß Kälber, die mit 10,0 ccm oder 15,0 ccm von Rinderpestserum geimpft waren, 45 Tage nach der Serumverleibung gegen Injektion von hochvirulentem Rinderpestblut sich reaktionslos verhielten. Wie die Dauer der Wirksamkeit des antitoxischen Serums, hält die Dauer der passiven Immunität des bakteriolytischen Serums lange an. Nach experimentellen Untersuchungen von A. Schütze (9) verbleibt die passive Immunität des homologen vom Meerschweinchen herrührenden Choleraimmunserums 3–4mal so lange im Meerschweinchenorganismus, als das heterologe Kaninchen- oder Ziegenserum.

Die Ursache des raschen Aufhörens der passiven Immunität bei heterologem Serum suchte man anfangs damit zu erklären, daß die im Serum befindliche wirksame Substanz als fremde Bestandteile aus dem Körper auf verschiedenen Exkretionswegen ausgeschieden oder verbraucht würde. Seit der Entwicklung der Lehre von der Präzipitatabildung, welche bekanntlich in eine Reaktion im tierischen Organismus auf die Einverleibung von heterologen Eiweißkörpern besteht, suchten die Autoren (10) einen ursächlichen Zusammenhang zwischen einer Bildung von Präzipitinen und dem raschen Aufhören der passiven Immunität durch heterologe Seruminjektion. R. Pfeifer und Friedberger (11) haben andererseits auf Grund ihrer Untersuchungen gezeigt, daß die kurze Dauer der passiven Immunität durch heterologes Serum auf der Wirkung eines Antiserums beruht, welches bei Injektion des heterologen Immunserums entsteht und die Wirkung des betreffenden Serums paralyisiert. Diese Hypothese haben A. Wassermann und C. Bruck (12) weiterverfolgt und gelangten zu dem Schluß, daß die Bildung von Eiweißpräzipitinen nicht die Ursache für die kurze Dauer der passiven Immunität sein könne, sondern daß ganz unabhängig von den normalen Eiweißbestandteilen des Serums auch die spezifischen Bestandteile des Immunserums, zwecks Bildung eines Antikörpers verankert werden.

#### Versuch über die Dauer des Choleraagglutinins bei der Injektion von:

Heterologes Serum.		Homologes Serum.	
Kaninchen No. 1. Körpergewicht 2170.		Kaninchen No. 3. Körpergewicht 3490	
1. Mai 1905. 10,0 ccm Cholera pferdeserum (Agglutinationswert 1:10 000), subkutan injiziert. Blutserum vor d. Injektion agglutin. nicht Cholera vibrien 1:10		1. Mai 1905. 10,0 ccm Cholera kaninchenserum (Agglutinationswert 1:5000) subkutan injiziert. Blutserum vor d. Injektion agglutin. nicht Cholera vibrien 1:10	
2. Mai entblutet.	Agglutination 1:1000	2. Mai entblutet.	Agglutination 1:500
5. " "	" 1:1000	5. " "	" 1:200
9. " "	" 1:200	9. " "	" 1:200
12. " "	" 1:10	12. " "	" 1:100
negativ			
15. Mai entblutet.	Agglutination 1:10	15. " "	" 1:50
negativ etc.			
		18. " "	" 1:50
		22. " "	" 1:50
		27. " "	" 1:10

Kaninchen No. 2. Körpergewicht 2860.

1. Mai 1905. 10,0 ccm Cholerapferdeserum (Agglutinationswert 1:10 000) intraperitoneal injiziert. Blutserum vor der Injektion 1:10, negativ.
2. Mai entblutet. Agglutination 1:1000
5. " " " 1: 500
9. " " " 1: 50
12. " " " 1: 10  
negativ
15. Mai entblutet. Agglutination 1: 10  
negativ.

Kaninchen No. 6. Körpergewicht 1975.

6. Juni 1905 5,0 ccm Cholerapferdeserum (Agglutinationswert 1:10 000), subkutan injiziert. Blutserum vor der Injektion 1:10 negativ.
8. Juni entblutet. Agglutination 1:400
13. " " " 1:100
22. " " " 1: 10  
negativ

Kaninchen No. 4. Körpergewicht 2930.

1. Mai 1905 10,0 ccm Cholerakaninchen serum (Agglutinationswert 1:5000) intraperitoneal injiziert. Blutserum vor der Injektion 1:10 negativ.
2. Mai entblutet. Agglutination 1:200
5. " " " 1:100
9. " " " 1: 50
12. " " " 1: 30
15. " " " 1: 10
18. " " " 1: 10
22. " " " 1: 10  
negativ.

Kaninchen No. 7. Körpergewicht 1640.

6. Juni 1905 5,0 ccm Cholerakaninchen serum (Agglutinationswert 1:5000) subkutan injiziert. Blutserum vor der Injektion 1:10 negativ.
8. Juni entblutet. Agglutination 1:100
13. " " " 1:100
22. " " " 1: 50
27. " " " 1: 30
2. Juli " " 1: 10
7. " " " 1: 10

Versuch über die Dauer der Bakteriolyse im Kaninchenorganismus besonders bei den wiederholten Injektionen mit steigenden Dosen von:

Heterologes Serum.

(Bakteriolytischer Wert  $\frac{1}{10}$  mg.)

Kaninchen No. 3. Gewicht 1975.

12. Juli 1905. 3,0 ccm Cholerapferdeserum subkutan injiziert. Blutserum vor der Injektion keine bakteriolytische Wirkung bei 0,2 ccm.
14. Juli entblutet.

Bakteriolytische Wirkung:

Dosis des Serums	Zahl der Kolonien
0,2 ccm	0
0,1 " "	0
0,05 " "	0
0,01 " "	0

18. Juli entblutet.

Bakteriolytische Wirkung:

Dosis des Serums	Zahl der Kolonien
0,2 ccm	0
0,1 " "	0
0,05 " "	0
0,01 " "	tausende

20. Juli entblutet.

Bakteriolytische Wirkung:

Dosis des Serums	Zahl der Kolonien
0,2 ccm	0
0,1 " "	0
0,05 " "	0
0,01 " "	$\infty$

20. Juli. 5,0 ccm Cholerapferdeserum subkutan injiziert.
22. Juli entblutet.

Bakteriolytische Wirkung:

Dosis des Serums	Zahl der Kolonien
0,2 ccm	0
0,1 " "	0
0,05 " "	hunderte
0,01 " "	tausende

Homologes Serum.

(Bakteriolytischer Wert  $\frac{1}{10}$  mg.)

Kaninchen No. 9. Gewicht 1855.

12. Juli 1905 3,0 ccm Cholerakaninchen serum subkutan injiziert. Blutserum vor der Injektion keine bakteriolytische Wirkung bei 0,2 ccm.
14. Juli entblutet.

Bakteriolytische Wirkung:

Dosis des Serums	Zahl der Kolonien
0,2 ccm	0
0,1 " "	0
0,05 " "	0
0,01 " "	0

18. Juli entblutet.

Bakteriolytische Wirkung:

Dosis des Serums	Zahl der Kolonien
0,2 ccm	0
0,1 " "	0
0,05 " "	0
0,01 " "	0

20. Juli entblutet.

Bakteriolytische Wirkung:

Dosis des Serums	Zahl der Kolonien
0,2 ccm	0
0,1 " "	0
0,05 " "	0
0,01 " "	0

20. Juli. 5,0 ccm Cholerakaninchen serum subkutan injiziert
22. Juli entblutet.

Bakteriolytische Wirkung:

Dosis des Serums	Zahl der Kolonien
0,2 ccm	0
0,1 " "	0
0,05 " "	0
0,01 " "	0
0,005 " "	0



27. Juli entblutet.

Bakteriolytische Wirkung:	
Dosis des Serums	Zahl der Kolonien
0,2 ccm	hunderte
0,1 "	tausende
0,05 "	∞

29. Juli 10,0 ccm Cholerapferdeserum subkutan injiziert.

31. Juli entblutet.

Bakteriolytische Wirkung:	
Dosis des Serums	Zahl der Kolonien
0,1 ccm	0
0,05 "	0
0,01 "	0
0,005 "	0

4. Aug. entblutet.

Bakteriolytische Wirkung:	
Dosis des Serums	Zahl der Kolonien
0,2 ccm	0
0,1 "	hunderte
0,05 "	tausende
0,01 "	"
0,005 "	∞

8. Aug. entblutet.

Bakteriolytische Wirkung:	
Dosis des Serums	Zahl der Kolonien
0,2 ccm	∞
0,1 "	∞
0,05 "	∞

10. Aug. 20,0 ccm Cholerapferdeserum subkutan injiziert.

12. Aug. entblutet.

Bakteriolytische Wirkung:	
Dosis des Serums	Zahl der Kolonien
0,2 ccm	0
0,1 "	0
0,05 "	0
0,01 "	∞

15. Aug. entblutet.

Dosis des Serums	Zahl der Kolonien
0,2 ccm	0
0,1 "	0
0,05 "	tausende

19. Aug. entblutet.

Dosis des Serums	Zahl der Kolonien
0,2 ccm	0
0,1 "	0
0,05 "	∞

20. Aug. Tod.

Kaninchen No. 10. Gewicht 3680

12. Juli 1905 3,0 ccm Cholerapferdeserum intraperitoneal injiziert. Bluterum vor der Injektion keine bakteriolytische Wirkung bei 0,2 ccm.

14. Juli entblutet.

Dosis des Serums	Zahl der Kolonien
0,2 ccm	0
0,1 "	0
0,05 "	0
0,01 "	0

18. Juli entblutet.

Dosis des Serums	Zahl der Kolonien
0,2 ccm	hunderte
0,1 "	"
0,05 "	tausende
0,01 "	∞

27. Juli entblutet.

Bakteriolytische Wirkung:	
Dosis des Serums	Zahl der Kolonien
0,2 ccm	0
0,1 "	0
0,05 "	0
0,01 "	0
0,005 "	0

29. Juli 10,0 ccm Cholerakaninchen-serum subkutan injiziert.

31. Juli entblutet.

Bakteriolytische Wirkung:	
Dosis des Serums	Zahl der Kolonien
0,1 ccm	0
0,05 "	0
0,01 "	0
0,005 "	0
0,001 "	0

4. Aug. entblutet.

Bakteriolytische Wirkung:	
Dosis des Serums	Zahl der Kolonien
0,1 ccm	0
0,05 "	0
0,01 "	0
0,005 "	0
0,001 "	hunderte

8. Aug. entblutet

Bakteriolytische Wirkung:	
Dosis des Serums	Zahl der Kolonien
0,1 ccm	0
0,05 "	0
0,01 "	0
0,005 "	0
0,001 "	tausende

12. Aug. entblutet.

Bakteriolytische Wirkung:	
Dosis des Serums	Zahl der Kolonien
0,1 ccm	0
0,05 "	0
0,01 "	0
0,005 "	hundert

15. Aug. entblutet.

Dosis des Serums	Zahl der Kolonien
0,1 ccm	0
0,05 "	0
0,01 "	0
0,005 "	hunderte

19. Aug. entblutet.

Dosis des Serums	Zahl der Kolonien
0,1 ccm	0
0,05 "	0
0,01 "	0
0,005 "	tausende

Kaninchen No. 11. Gewicht 3530.

12. Juli 1905 3,0 ccm Cholerakaninchen-serum intraperitoneal injiziert. Sonst wie K. No. 10

14. Juli entblutet.

Dosis des Serums	Zahl der Kolonien
0,2 ccm	0
0,1 "	0
0,05 "	0
0,01 "	0

18. Juli entblutet.

Dosis des Serums	Zahl der Kolonien
0,2 ccm	0
0,1 "	0
0,05 "	0
0,01 "	0

20. Juli entblutet.		
Dosis des Serums	Zahl der Kolonien	
0,2 ccm	hunderte	
0,1 "	$\infty$	
0,05 "	$\infty$	
20. Juli 5,0 ccm Cholerapferdeserum intra-		
peritoneal injiziert.		
22. Juli entblutet.		
Dosis des Serums	Zahl der Kolonien	
0,2 ccm	0	
0,1 "	0	
0,05 "	hunderte	
27. Juli entblutet.		
Dosis des Serums	Zahl der Kolonien	
0,2 ccm	0	
0,1 "	hunderte	
0,05 "	tausende	
29. Juli 10,0 ccm Cholerapferde-		
serum intraperitoneal injiziert		
30. Juli Tod.		

# Kaninchen No. 12. Gewicht 2460.

13. Juli 1905. 5,0 ccm Cholerapferdeserumglobulinlösung (aus 20,0 ccm Cholerapferdeserum bei Sättigung mit Ammonsulfat gefällt, in 40,0 ccm physiologischer Kochsalzlösung gelöst), subkutan injiziert. Blutsrum vor der Injektion keine bakteriolytische Wirkung bei 0,2 ccm		
16. Juli entblutet.		
Dosis des Serums	Zahl der Kolonien	
0,2 ccm	0	
0,1 "	hunderte	
0,05 "	tausende	
0,01 "	$\infty$	
20. Juli entblutet.		
Dosis des Serums	Zahl der Kolonien	
0,2 ccm	hunderte	
0,1 "	$\infty$	
0,05 "	$\infty$	
24. Juli entblutet.		
Dosis des Serums	Zahl der Kolonien	
0,2 ccm	hunderte	
0,1 "	$\infty$	
0,05 "	$\infty$	
27. Juli entblutet.		
Dosis des Serums	Zahl der Kolonien	
0,2 ccm	$\infty$	
0,1 "	$\infty$	
0,05 "	$\infty$	
29. Juli 10,0 ccm Cholerapferdeglobulinlösung subkutan injiziert.		

20. Juli entblutet.		
Dosis des Serums	Zahl der Kolonien	
0,2 ccm	0	
0,1 "	0	
0,05 "	0	
0,01 "	0	
20. Juli 5,0 ccm Cholerakaninchen- serum intraperitoneal injiziert		
22. Juli entblutet.		
Dosis des Serums	Zahl der Kolonien	
0,1 ccm	0	
0,05 "	0	
0,01 "	0	
27. Juli entblutet.		
Dosis des Serums	Zahl der Kolonien	
0,1 ccm	0	
0,05 "	0	
0,01 "	0	
29. Juli 10,0 ccm Cholerakaninchen- serum intraperitoneal injiziert		
31. Juli entblutet.		
Dosis des Serums	Zahl der Kolonien	
0,1 ccm	0	
0,05 "	0	
0,01 "	0	
0,005 "	0	
0,001 "	0	
3. Aug. entblutet.		
Dosis des Serums	Zahl der Kolonien	
0,1 ccm	0	
0,05 "	0	
0,01 "	0	
0,005 "	0	
0,001 "	0	

# Kaninchen No. 13. Gewicht 2450

13. Juli 1905. 5,0 ccm Cholerakanin- chenserumglobulinlösung (aus 20,0 ccm Cholerakaninchen Serum bei Sättigung mit Ammonsulfat gefällt, in 40,0 ccm physiologischer Kochsalzlösung gelöst) subkutan injiziert. Sonst wie No. 12		
16. Juli entblutet.		
Dosis des Serums	Zahl der Kolonien	
0,2 ccm	0	
0,1 "	0	
0,05 "	0	
0,01 "	0	
20. Juli entblutet.		
Dosis des Serums	Zahl der Kolonien	
0,1 ccm	0	
0,05 "	0	
0,01 "	0	
24. Juli entblutet.		
Dosis des Serums	Zahl der Kolonien	
0,1 ccm	0	
0,05 "	0	
0,01 "	hundert	
27. Juli entblutet.		
Dosis des Serums	Zahl der Kolonien	
0,1 ccm	0	
0,05 "	0	
0,01 "	hundert	
29. Juli 10,0 ccm Cholerakaninchen Serum- globulinlösung subkutan injiziert.		

## 31. Juli entblutet.

Dosis des Serums	Zahl der Kolonien
0,1 ccm	0
0,05 "	0
0,01 "	0
0,005 "	∞

## 4. Aug. entblutet.

Dosis des Serums	Zahl der Kolonien
0,1 ccm	hunderte
0,05 "	tausende
0,01 "	∞

## 8. Aug. entblutet.

Dosis des Serums	Zahl der Kolonien
0,1 ccm	∞
0,05 "	∞
0,01 "	∞

## 30. Juli Tod.

(Schluß folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Zur Kenntnis der Immunisierungsverhältnisse der Cholera-vibrionen.

[Aus dem Institut für Infektionskrankheiten in Berlin.]

Von Dr. G. Flehner.

Die gegenwärtige Betrachtungsweise bei der Inangriffnahme neuer Untersuchungen zum Ausbau der Immunitätslehre, die nicht zum geringsten Teil auf den Theorien Ehrlichs basiert, und die neueren Verfahren zweckmäßiger Methodik haben ein genaueres Studium der verschiedenen Bakterienarten ermöglicht. Gerade in der allerletzten Zeit sind die Eigentümlichkeiten der verschiedenen spezifischen Bakterien Gegenstand eingehenden und erfolgreichen Studiums geworden, das mit Rücksicht auf die Eigenart der einzelnen Stämme einer Spezies nicht nur ein bedeutendes theoretisches, sondern auch ein praktisches Interesse hat. Leitend war bei diesen Studien der Gesichtspunkt, welche Stämme am geeignetsten für die aktive Immunisierung wären, und welche Kulturen für die Herstellung hochwertiger Sera am besten wären.

Die Untersuchungen, die sich hauptsächlich auf den feineren Bau des Rezeptorenapparates bei den einzelnen Stämmen einer und derselben Bakterienart (Wassermann und seine Mitarbeiter) beziehen und diejenigen, die sich mit dem geringeren oder stärkeren Vermögen der Bakterien agglutinierende oder bakterizide Sera zu erzeugen (Peiffer und Friedberger u. a.) befassen, sind in erster Linie mit Cholera- und Typhusbacillen vorgenommen.

Die Untersuchungen, über welche ich im folgenden berichten will, sind in Fortsetzung und Ergänzung der Arbeiten von Kolle und Gotschlich, sowie Meinicke, Jaffé und Flemming mit Cholera-vibrionen angestellt.

Die für das Studium der Rezeptoren so wichtige Absorptionsmethode wurde bekanntlich zuerst von Ehrlich und Morgenroth zum Studium der Hämolyse benutzt. Diese Methode wurde später auch von Bordet und anderen Autoren, von denen Eisenberg und Volk, Neisser und Lubowski, Wassermann, Pfeiffer, Strong, Hetsch und Lentz, Schiller, Buston und Vaughan, Toos,

Pfeiffer und Friedberger, Friedberger und Moreschi, Meinicke, Jaffé und Flemming erwähnt seien, mit Erfolg für das Studium der Bakterienrezeptoren und der zugehörigen Serumarten angewandt.

Die mit Bindungsversuchen bei der gleichen Bakterienart von verschiedenen Autoren erzielten Resultate sind nicht immer übereinstimmend gewesen, infolgedessen sind auch von den einzelnen Autoren für die Struktur und Eigenarten der Rezeptoren Schlüsse gezogen worden, die miteinander kaum übereinstimmen. Wassermann nimmt bei den Vibrien verschiedene Rezeptoren an, sogenannte Partialrezeptoren, die neben den allen Bakterien gemeinsamen Grundrezeptoren vorhanden sind. Pfeiffer hat ausgesprochene Unterschiede in der Bindungskraft der verschiedenen Cholera-kulturen gefunden, auf Grund deren er gleichfalls zu einer Annahme von Unterschieden im Rezeptorenapparat der einzelnen Kulturen gelangt. Pfeiffer ist geneigt, die Unterschiede der einzelnen Kulturen in ihrem Rezeptorenapparat nicht nur als qualitative aufzufassen, sondern auch verschiedene Affinitäten der an sich gleichartigen Rezeptoren zu supponieren, um alle von ihm beobachteten Tatsachen hinreichend erklären zu können.

Daß tatsächlich die Rezeptoren verschiedener Cholera-kulturen annähernd gleich, aber mit verschiedenen Affinitäten ausgestattet sind, geht aus den Versuchen von Kollé und Gotschlich einerseits und den darauf aufgebauten Untersuchungen von Meinicke, Jaffé und Flemming andererseits hervor. Die ersteren zeigten, daß ein jedes Choleraserum, gleichgültig mit welchem Stamme es hergestellt ist, alle Cholera-stämme in Agglutination, wie im Pfeifferschen Versuch, gleichmäßig beeinflusst; während die letztgenannten Autoren einwandsfrei durch Bindungsversuche an 47 Cholera-stämmen und zahlreichen Serumproben bewiesen, daß das unterschiedliche Verhalten des Rezeptorenapparats bei den einzelnen Cholera-stämmen nicht in Beziehung zu bringen sei mit qualitativen Unterschieden im feineren Bau selbst oder mit der Annahme von verschiedenen Rezeptoren der verschiedenen Stämme, sondern daß es eher der Ausdruck sei für den Affinitätsgrad, den die bei verschiedenen Kulturen gleichen Rezeptoren den Antigenen gegenüber zeigen.

Abgesehen von diesen Meinungsverschiedenheiten, die durch eine verschiedene Auffassung und Erklärung der Tatsache oder durch andere Versuchsergebnisse, z. B. bei Verwendung einer größeren Zahl von Stämmen, bedingt sind, sind aber auch Differenzen in der Methodik die Ursache dafür, daß häufig Versuche, die dasselbe Ziel verfolgen, zu verschiedenen Resultaten führen. Betrachtet man die Versuche der einzelnen Autoren, so bemerkt man sofort die Verschiedenartigkeit der Technik, sowohl für die Gewinnung der abgetöteten oder lebenden Kulturen, wie auch für die zeitlichen, thermischen und mechanischen Bedingungen, unter denen die Bindungsversuche vorgenommen wurden. Meinicke, Jaffé und Flemming haben ihre Bindungsversuche stets unter den gleichen Bedingungen ausgeführt, nachdem sie durch ausgedehnte Versuche die günstigsten Bindungsbedingungen des Choleraserums für Cholera-vibrien festgestellt hatten. So erzielten sie durchaus gleichmäßige Resultate mit einem Absorptionsgemisch, das sie eine Stunde bei 37° C schüttelten. Es wurden 10 ccm eines hochwertigen agglutinierenden Serums in der Verdünnung 1:20 zur Abschwemmung einer 18-stündigen Cholera-kultur benutzt. Die Kulturen waren stets in gleich

weiten Agarröhrchen, deren Oberfläche gleiche war, gezüchtet. Das Gemisch wurde zentrifugiert und die so gewonnene klare Flüssigkeit zu den Verdünnungen mit physiologischer Kochsalzlösung verwandt. Die Bestimmung der Grenze geschah mittels der bekannten makroskopischen Methode. Alle Versuche wurden, um etwaige Veränderungen des Rezeptorenapparates durch Abtötung zu vermeiden, mit lebenden Kulturen ausgeführt. Bei den bakteriolytischen Versuchen wurde zu sämtlichen Serumverdünnungen statt der Kochsalzlösung Bouillon von einem bestimmten Alkalitätsgrade benutzt.

Es mußte nun zunächst meine Aufgabe sein, zu prüfen, ob die frischen während der letzten Choleraepidemieen in Deutschland (Herbst 1905) isolierten Choleraulturen sich ähnlich so verhielten wie die im Institut seit längerer Zeit fortgezüchteten Kulturen, welche die letztgenannten Autoren benutzt hatten; sowie ferner zu untersuchen, ob die seit den im vorigen Jahre angestellten Experimenten der genannten Autoren auf künstlichen Nährböden fortgezüchteten Stämme noch die gleiche Affinität ihrer Rezeptoren, wie sie in der Arbeit mitgeteilt sind, aufwiesen. Ich zog die Kulturen BI, GIV, GVI und 74, die frischen Cholera Stämme 76, 187, 363 und 70, sowie die in der Tabelle enthaltenen Kulturen zu den Versuchen heran.

Agglutinierendes Pferdeserum Baku I, Titer 1:7000, in der Verdünnung 1:20, 10 ccm mit 1 Kulturstamm 322 (Sammlung 1905), 1 Stunde unter Schütteln bei 37° abgesättigt und gegen folgende Stämme ausgewertet.

Stamm	Serumverdünnungen			
	1:200	1:500	1:1000	1:2000
70	++	+	±	±
76	+	—	—	—
187	++	+	—	—
302b	±	—	—	—
322	±	—	—	—
363	+++	++	+	±
574	+++	++	+	±
BI } alte	±	—	—	—
GVI } Sammlung	++	+	±	—

Die Versuchsanordnung war die gleiche, wie sie von den drei vorerwähnten Autoren angewandt war. Das Serum vom Agglutinationstiter 1:7000 stammte von einem Pferd, das zu wiederholten Malen mit Kulturen des Stammes BI vorbehandelt worden war. Die Tabellen 1 bis 8 enthalten die Ergebnisse dieser Versuche.

Betrachtet man die Tabellen, so sieht man daraus sofort, daß die 4 älteren Stämme noch das gleiche Verhalten bei den Bindungsversuchen aufweisen wie damals. Sie gehören denselben Gruppen an, wie sie bei den im vorigen Jahre im Institut ausgeführten Untersuchungen sich herausgestellt hatten, BI und GIV, sowie GVI und 74. Auch bei den frisch isolierten Cholerastämmen traten Unterschiede zu Tage, nach denen sie sich in verschiedene Gruppen einteilen lassen. Es zeigte sich, daß die Stämme 70 und 363 einerseits, die Stämme 187 und 76 andererseits in eine gemeinsame Gruppe gehören. Nachdem so an wenigen frisch isolierten Cholerastämmen das gleiche prinzipielle Verhalten gegenüber einem Choleraserum festgestellt war, wurde eine größere Anzahl von Kulturen, die in der Tabelle zusammengestellt sind, daraufhin untersucht, wieweit sie sich in Gruppen einteilen lassen.

Die Versuche zeigten, daß es jedenfalls nicht von dem längeren oder kürzeren Zeitraum der Fortzüchtung der Kulturen auf künstlichen Nährböden abhängig ist, wenn bei den Bindungsversuchen so starke Unterschiede bei den einzelnen Kulturen zu Tage treten.

Bei den Kontrollversuchen mit nicht abgesättigtem Pferdeserum wurden die sämtlichen hier aufgeführten Stämme bis annähernd zur Titergrenze agglutiniert.

Pferdeserum II, Titer 1:7000, in der Verdünnung 1:20, 10 ccm bei 37° eine Stunde unter Schütteln mit Cholerastämmen BI, GIV, GVI, 74, 76, 187, 363, 70 abgesättigt und gegen dieselben Stämme ausgewertet.

Tabelle 1.  
BI Absättigung.

Stämme	Verdünnungen des Zentrifugenklars							
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:4000	1:7000
BI	+++	++	+	—	—	—	—	—
GIV	+++	+++	++	+	—	—	—	—
GVI	+++	+++	++	++	++	++	+	—
74	+++	+++	+++	+++	++	++	+	—
76	++	+	±	—	—	—	—	—
187	+++	++	+	—	—	—	—	—
363	+++	+++	++	++	+	+	—	—
70	+++	+++	++	++	+	±	—	—
Kontrolle	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++

Tabelle 2.  
GIV Absättigung.

Stämme	Verdünnungen des Zentrifugenklars							
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:4000	1:7000
BI	+++	++	+	—	—	—	—	—
GIV	+++	++	±	—	—	—	—	—
GVI	+++	++	++	++	+++	++	+	—
74	+++	++	+++	++	+++	++	+	—
76	++	+	—	—	—	—	—	—
187	+++	++	+	—	—	—	—	—
363	+++	+++	++	+	±	—	—	—
70	+++	++	++	+	±	—	—	—
Kontrolle	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++

Tabelle 3.  
GVI Absättigung.

Stämme	Verdünnungen des Zentrifugenklars							
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:4000	1:7000
BI	++	++	±	—	—	—	—	—
GIV	+++	++	±	—	—	—	—	—
GVI	+++	++	±	—	—	—	—	—
74	+++	++	+	—	—	—	—	—
76	±	—	—	—	—	—	—	—
187	++	+	—	—	—	—	—	—
363	++	+	—	—	—	—	—	—
70	+	+	—	—	—	—	—	—
Kontrolle	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++

Tabelle 4.  
74 Absättigung.

Stämme	Verdünnungen des Zentrifugenklars							
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:4000	1:7000
BI	++	++	+	—	—	—	—	—
G IV	+++	++	+	—	—	—	—	—
G VI	+++	++	++	+	±	—	—	—
74	+++	++	±	—	—	—	—	—
76	+	—	—	—	—	—	—	—
187	+	+	—	—	—	—	—	—
363	+++	++	+	—	—	—	—	—
70	+++	++	+	—	—	—	—	—
Kontrolle	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++

Tabelle 5.  
76 Absättigung.

Stämme	Verdünnungen des Zentrifugenklars							
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:4000	1:7000
BI	+++	+++	++	+	±	—	—	—
G IV	+++	+++	++	+	±	—	—	—
G VI	+++	+++	+++	++	++	+	±	—
74	+++	+++	+++	++	++	+	±	—
76	++	+	—	—	—	—	—	—
187	+++	++	+	—	—	—	—	—
363	+++	+++	++	++	+	±	—	—
70	+++	+++	++	++	+	±	—	—
Kontrolle	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++

Tabelle 6.  
187 Absättigung.

Stämme	Verdünnungen des Zentrifugenklars							
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:4000	1:7000
BI	+++	+++	++	+	—	—	—	—
G IV	+++	+++	++	±	—	—	—	—
G VI	+++	+++	++	++	+	±	—	—
70	+++	+++	++	++	+	±	—	—
76	+	+	+	—	—	—	—	—
187	++	+	±	—	—	—	—	—
363	+++	+++	++	++	+	—	—	—
70	+++	+++	++	++	+	—	—	—
Kontrolle	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++

Tabelle 7.  
363 Absättigung.

Stämme	Verdünnungen des Zentrifugenklars							
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:4000	1:7000
BI	++	++	±	—	—	—	—	—
G IV	+++	++	+	—	—	—	—	—
G VI	++	++	+	—	—	—	—	—
74	++	++	+	—	—	—	—	—
76	++	+	—	—	—	—	—	—
187	++	+	±	—	—	—	—	—
363	++	++	±	—	—	—	—	—
70	++	++	+	—	—	—	—	—
Kontrolle	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+

Tabelle 8.  
70 Absättigung.

Stämme	Verdünnungen des Zentrifugenklares							
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:4000	1:7000
BI	++	++	+	—	—	—	—	—
GIV	+++	++	+	—	—	—	—	—
GVI	+++	++	+	—	—	—	—	—
74	+++	++	+	—	—	—	—	—
76	+	+	—	—	—	—	—	—
187	++	+	+	—	—	—	—	—
363	+++	++	+	+	—	—	—	—
70	++	+	+	—	—	—	—	—
Kontrolle	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+

Bei den Versuchen mit abgesättigtem Serum zeigt sich allerdings ein prinzipieller Unterschied von Bedeutung, je nachdem stark oder schwach bindende Kulturen zur Absättigung des Serums benutzt werden. Wenn man mit schwach bindenden Stämmen BI und GIV, 76 und 183 absättigt, so verbleibt im Serum eine genügende Menge von Agglutininen, um die Wirkung der einzelnen Gruppen damit demonstrieren zu können. Wenn man aber die Absättigung mit stark bindenden Stämmen (GVI, 74, 363 und 70) vornimmt, so wird dem Serum der größte Teil seines Agglutiningehaltes entzogen, und die mit dem abgesättigten Serum angestellten vergleichenden Agglutinationsversuche lassen keine Gruppenunterschiede mehr hervortreten.

Während die bisherigen Versuche nur mit Serumproben, die an Pferden durch längere Vorbehandlung gewonnen waren, angestellt wurden, habe ich auch frisches Serum herangezogen, das an Kaninchen mit zweien der zur Bindung benutzten Stämme gewonnen war. Hierbei konnte die nicht unwichtige Frage studiert werden, ob auch durch intravenöse Injektionen von kleinen Mengen von Vibrionen sich hochwertige Sera erzielen lassen, und ob eventuelle Unterschiede der so erhaltenen Serumproben gegenüber den durch Injektion mit großen Dosen hergestellten Sera sich ergeben würden. Neuerdings haben nämlich Pfeiffer, Mertens, Friedberger, Petterson, Friedberger und Moreschi die Erzeugung bemerkenswerter Mengen von Agglutininen auch nach intravenöser Einverleibung minimalster Bakterienmengen nachweisen können. Friedberger und Moreschi haben auf Grund dieser Versuche vorgeschlagen, auch für Immunisierungszwecke am Menschen kleinste Dosen abgetöteter Kulturen zu verwenden. Die von mir zur Entscheidung dieser Frage angestellten Versuche beziehen sich auf die Prüfung der bakteriolytischen und agglutinierenden Eigenschaften des Serums von 4 Kaninchen, denen je  $\frac{1}{20}$  bzw.  $\frac{1}{100}$  24-stündiger Agarkultur der Stämme 70 und 76 injiziert wurde.

Aus den Tabellen 9, 10, 15 und 16 geht hervor, daß die von den mit  $\frac{1}{20}$  Kultur immunisierten Kaninchen stammenden Serumproben auf die geprüften Cholerastämme eine annähernd gleiche Wirkung ausübten. Diese Erkenntnis, daß die verschiedenen Cholerastämme fast alle den gleichen Grenzwert der Beeinflussbarkeit durch ein hochwertiges Serum besitzen, steht also in Uebereinstimmung mit den Ergebnissen von Kolle und Gotschlich, Otto und Lentz, Hetsch und Lentz, Meinicke, Jaffé und Flemming, welche diese Tatsache in großen Versuchsreihen erörtert hatten.



Die Absättigungsversuche mit diesen beiden Serumproben ergaben sowohl bei agglutinierenden wie bei bakteriolytischen Versuchen wieder die gleiche Gruppierung, wie sie bei den Pferdeserumproben erhalten waren. Die Gruppierung trat auch in diesem Falle stärker nach Absättigung des Serums mit den schwach bindenden Stämmen 76, als bei Benutzung der stark bindenden Stämme 70 zu Tage.

Die Tatsache, daß die Bildung der Antigene bei den zwei verschiedenen Gruppen angehörigen Stämmen von verschiedener Bindungskraft ungefähr die gleiche war, daß die Antigene auf alle Stämme gleichmäßig wirkten, ist ein neuer Beweis für die Richtigkeit der Annahme, daß die verschiedenen Vibrionenstämmen denselben Rezeptorenapparat besitzen und ihre Unterschiede nur einem differenten Affinitätsgrad der an sich gleichen Rezeptoren verdanken.

Die Tabellen 13, 14, 19 und 20 geben Aufschluß über den Gehalt an agglutinierenden und bakteriziden Substanzen derjenigen Sera, die durch intravenöse Vorbehandlung mit  $\frac{1}{100}$  einer 24-stündigen, also bei 60° abgetöteten Kultur der Stämme 70 bzw. 76 gewonnen waren.

Wie ersichtlich, schwankt der Agglutinationstiter von 1:50 bis 1:100, was ungefähr  $\frac{1}{10}$  oder etwas weniger des Wertes beträgt, der bei den mit  $\frac{1}{20}$  Kultur erzeugten Sera erhalten wurde. Das bakteriolytische Vermögen bewegt sich um 1:1000, war also ungefähr  $\frac{1}{5}$  desjenigen Wertes, der nach Injektion von  $\frac{1}{20}$  Kultur im Serum auftrat.

Pfeiffer und Friedberger haben bereits darauf hingewiesen, daß sie durch Injektion viel kleinerer Dosen zwar zuweilen hochwertige Sera erhalten, aber überhaupt keine Bildung von Antigenen erzielen konnten. Es müssen also individuelle Unterschiede der einzelnen Tiere hierbei ausschlaggebend sein. Meine Versuche sprechen wegen der gleichmäßigen nur geringen Steigerung des Titers, die durch Injektion von kleinen Dosen bei Kaninchen erzielt wurden, dafür, zur aktiven Immunisierung allzu kleine Dosen der Bakterien nicht zu verwenden.

Am Menschen ist aber bei den Immunisierungsverfahren eine möglichst hohe Immunität anzustreben. Die Injektion der kleinen Dosen von  $\frac{1}{100}$  bis  $\frac{1}{500}$  Oese, die nach Friedberger und Moreschi in einzelnen Fällen bei Kaninchen Titerveränderung hervorgerufen hat, ist nicht genügend. Nach den Beobachtungen von Mertens hoffte Friedberger bei Verringerung der von Kolle angewandten Dosen ein stark wirksames Serum zu erzielen. So ließ er sich in eine Armvene  $\frac{1}{100}$  Oese einer bei 60° C abgetöteten Cholerakultur injizieren. Der Titer des unmittelbar vor der Injektion entnommenen Serums war 0,15, während 8 Tage nach der Injektion 0,01 Gramm Serum nicht zu schützen vermochte. Trotzdem also die Injektion intravenös vorgenommen war, war das Ergebnis ein von dem zu erwartenden recht abweichendes.

(Fortsetzung folgt.)

*Nachdruck verboten.***Agglutinierbarkeit der Fickerschen Paratyphusdiagnostica.**[Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie der  
Universität Straßburg i. E.]Von Dr. **Spartaco Minelli**, Prosektor in Bergamo.

Uebersetzt von Dr. Kurt Tautz-Berlin.

Das Bedürfnis, auch dem von Untersuchungsanstalten fernen Ärzte die Möglichkeit zu geben, selbständig bei der Diagnose des Typhus das Agglutinationsphänomen zu verwenden, hat zur Einführung des Fickerschen Typhusdiagnostikums in die Praxis Veranlassung gegeben. Ueber seine Zuverlässigkeit wurden von verschiedenen Seiten Untersuchungen angestellt. Im allgemeinen hat man gute Resultate erzielt, die fast den mit lebenden Kulturen erhaltenen an die Seite gestellt werden konnten, und nur in ganz vereinzelten Fällen wurden Mißerfolge mitgeteilt. Verwoot<sup>1)</sup> bekam mit dem Diagnostikum in 99 Fällen 16mal negative und 17mal zweifelhafte Resultate, während die Agglutination mit lebenden Kulturen in allen Fällen positiv ausfiel. Güttler<sup>2)</sup> fand, daß in 29 Fällen der Agglutinationswert des Serums gegenüber lebenden Kulturen höher war als dem Fickerschen Diagnosticum gegenüber, und daß man auch in demselben Zeitraume unter Umständen eher eine Agglutination mit diesen als mit dem Diagnostikum erzielte, so daß er in 8 Fällen mit den lebenden Kulturen eine Typhusdiagnose stützen zu können glaubte, während es mit dem Diagnostikum noch nicht gelang. Güttler hatte allerdings einen sehr leicht agglutinablen Typhusstamm bei seinen Untersuchungen zur Hand.

Des weiteren äußert sich auf Grund von klinischen Erfahrungen und Immunserumprüfungen G. Kien<sup>3)</sup> in günstigem Sinne über die Verwertbarkeit der Fickerschen abgetöteten Typhusbacillen zur Gruber-Widalschen Reaktion, ferner Sadler<sup>4)</sup> u. a.

Um einem von vielen Seiten geäußerten Wunsche Rechnung zu tragen, wurden in der letzten Zeit von der Firma Merck in Darmstadt zwei neue Diagnostica in den Handel gebracht, nämlich für den Paratyphus A (Brion-Kayser) und B (Schottmüller). Die Herstellungsweise ist noch nicht allgemein bekannt, ebensowenig wie die des Typhusdiagnostikums. Es war daher von Interesse, eine Kontrolle erstens der Spezifität des Merckschen Präparates selbst (verwendete Stämme) und zweitens seiner Agglutinierbarkeit vorzunehmen.

Da man bis jetzt in diesem Sinne mit dem Blute von Tieren, die gegen die oben genannten Paratyphusarten immunisiert waren, noch keine Untersuchungen angestellt hatte, und da mir eine beträchtliche Anzahl von Kaninchen zur Verfügung stand, die von Kayser gegen den Para-

1) Verwoot, De Waarde van het Typhusdiagnostik v. Ficker vor de Praktijk. (Nederlandsche Tijdschrift voor Geneeskunde. 1904. 21, 2. Teil.)

2) Güttler, Vorteile und Nachteile des Fickerschen Typhusdiagnostikum. (Berliner klin. Wochenschr. 1904. No. 51—52.)

3) Kien, Georg, Ueber die Anwendung abgetöteter Typhusbacillen zur Ausführung der Gruber-Widalschen Reaktion. (Therap. Monatshefte. 1905. Januar. Deutsche med. Wochenschr. 1905. p. 653. 654. Sitz.-Ber. des unterels. Aerztervereins vom 17. Dezember 1904.)

4) Sadler, K., Berl. klin. Wochenschr. 1905. No. 10.

typhus A (Brion-Kayser) und den Paratyphus B (Schottmüller) immunisiert worden waren, so war es für mich nicht weiter mit Schwierigkeiten verbunden, einen Vergleich zwischen der Agglutininbarkeit des Fickerschen Paratyphusdiagnostikums und der lebender Kulturen anzustellen.

Die Resultate meiner im Einverständnis mit den Herren Proff. J. Forster und E. Levy vorgenommenen Versuche sind auf den beigefügten Tabellen ersichtlich.

Neben der Probe mit dem Fickerschen Paratyphusdiagnostikum stellte ich immer einen Versuch mit der Aufschwemmung einer jungen, ca. 20 Stunden alten Agarkultur von Paratyphus A (Brion-Kayser) und B (Schottmüller) in physiologischer 0,85-proz. NaCl-Lösung an.

Ich benutzte ferner das Blut von 5 gegen Paratyphus A und von 5 anderen gegen Paratyphus B immunisierten Kaninchen. Die Verdünnungen des durch Absetzenlassen völlig von roten Blutkörperchen befreiten Serums wurden in der gewöhnlichen Weise vorgenommen. Ich stellte 3 verschiedene Verdünnungsgrade her: 1:10, 1:100 und 1:1000 und fügte zu diesen Serumproben das Fickersche Diagnostikum.

Serum	0,2	$\frac{1}{100}$	+	0,8	Ficker	=	1: 500
"	0,1	$\frac{1}{100}$	+	0,9	"	=	1:1000
"	0,05	$\frac{1}{100}$	+	0,95	"	=	1:2000
"	0,3	$\frac{1}{1000}$	+	0,7	"	=	ca. 1:3000

Zur gleichzeitigen Prüfung der lebenden Kulturen benutzte ich dieselben Mengen der Serumverdünnung unter Anwendung stets gleicher Mengen abgeschwemmter Bacillen.

Serum	0,2	$\frac{1}{100}$	+	0,2	Bacillenaufschw.	+	0,6	(0,85 Proz. NaCl-Lösung)	=	1: 500
"	0,1	$\frac{1}{100}$	+	0,2	"	+	0,7	( " " " )	=	1:1000
"	0,05	$\frac{1}{100}$	+	0,2	"	+	0,75	( " " " )	=	1:2000

Ich ließ die Proben 12 Stunden lang (während der Nacht) ruhig bei Zimmertemperatur stehen und untersuchte am Morgen makroskopisch. In einigen Fällen wandte ich auch die mikroskopische Untersuchung an, unterließ sie aber in der Folge, weil beim Fickerschen Diagnostikum das Mikroskop nicht in Anwendung kommen soll. — Ich wollte indessen außerdem das Verhalten des Agglutinationstiter der gleichen Bacillen und Seren nach einem 3-stündigen Aufenthalte von Proben im Thermostaten bei 37° feststellen; denn dies ist hier die meist gebräuchliche Art, den Agglutinationswert von Serum zu bestimmen. In den einzelnen Tabellen habe ich neben die mit der Fickerschen Methoden erhaltenen Werte auch die Agglutinationsgrenzen der lebenden Bacillen gesetzt und zwar einmal die Resultate bei Zimmertemperatur und zum Vergleich die Befunde nach Brutschrankaufenthalt.

Mit Hilfe der zwei am stärksten agglutinierenden Sera beabsichtigte ich, das Verhalten der Agglutinabilität des Fickerschen Präparates bei der konstanten Temperatur von 10° unserer Wasserleitung zu studieren, um auch über solche niedere Wärmegrade etwas zu erfahren.

Schließlich untersuchte ich mittels derselben beiden Sera, wie sich das Agglutinationsvermögen des Serums eines gegen Paratyphus A immunisierten Kaninchens gegenüber dem Fickerschen Paratyphusdiagnostikum B verhielte und umgekehrt (Gruppenbeeinflussung).

Als lebende Bacillen verwendete ich folgende Stämme: *Bacterium paratyphi* Typus A vom Falle Brion-Kayser (Münch. med. Wochenschrift. 1902 No. 15), und *Bacterium paratyphi* Typus B vom Falle Seemann Schottmüllers (Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. Bd. XXXVI. p. 368).

## Paratyphus A (Brion Kayser).

I. Immunserum von Kaninchen A grau<sup>1)</sup>.

## 1. Proben.

## 2. Proben.

12 Stunden Zimmertemperatur	
500	++
1 000	++
2 000	++
3 000	++
5 000	++
10 000	++
20 000	++
Lebende Bacillen	Fickersches Paratyphus A-Diagnost.

Brutschrank 3 Stunden 37°	
500	++
1 000	++
2 000	++
3 000	++
5 000	++
10 000	+
20 000	0
Lebende Bacillen	Fickersches Paratyphus A-Diagnost.

II. Immunserum von Kaninchen A schwarz<sup>2)</sup>.

12 Stunden Zimmertemperatur	
500	++
1 000	++
2 000	++
3 000	+
5 000	?
10 000	0
20 000	0
Lebende Bacillen	Fickersches Paratyphus A-Diagnost.

Brutschrank 3 Stunden	
500	++
1 000	++
2 000	++
3 000	+
5 000	0
10 000	0
20 000	0
Lebende Bacillen	Fickersches Paratyphus A-Diagnost.

III. Immunserum von Kaninchen A gelb<sup>3)</sup>.

12 Stunden bei Zimmertemperatur	
500	++
1 000	++
2 000	++
3 000	++
5 000	+
10 000	0
20 000	0
Lebende Bacillen	Fickersches Paratyphus A-Diagnost.

3 Stunden im Brutschrank bei 37°	
500	++
1 000	++
2 000	++
3 000	++
5 000	+
10 000	0
20 000	0
Lebende Bacillen	Fickersches Paratyphus A-Diagnost.

IV. Immunserum von Kaninchen A braun<sup>4)</sup>.

12 Stunden bei Zimmertemperatur	
500	++
1 000	++
2 000	++
3 000	++
5 000	++
10 000	++
20 000	0
Lebende Bacillen	Fickersches Paratyphus A-Diagnost.

3 Stunden im Brutschrank bei 37°	
500	++
1 000	++
2 000	++
3 000	+
5 000	0
10 000	0
20 000	0
Lebende Bacillen	Fickersches Paratyphus A-Diagnost.

V. Immunserum von Kaninchen A rot<sup>5)</sup>.

12 Stunden bei Zimmertemperatur	
500	++
1 000	++
2 000	+
3 000	0
5 000	0
10 000	0
20 000	0
Lebende Bacillen	Fickersches Paratyphus A-Diagnost.

3 Stunden im Brutschrank bei 37°	
500	++
1 000	+
2 000	?
3 000	0
5 000	0
10 000	0
20 000	0
Lebende Bacillen	Fickersches Paratyphus A-Diagnost.

1) Immunisiert mit Stamm Kayser, gezüchtet aus Blut von Fall We. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XL. 1906. p. 285) und Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. LXXXV. p. 547.

2) Immunisiert wie No. I.

3) Immunisiert mit Stamm Brion-Kayser. (Münch. med. Wochenschr. 1902. No. 15.) Dasselbst auch die Nomenklatur besprochen u. Centralbl. f. Bakt. n. Parask. Bd. XXXV. p. 154.

4) Immunisiert wie No. III.

5) Immunisiert wie No. III.

VI. Immunserum von Kaninchen A gelb<sup>1)</sup>.

12 Stunden bei Zimmertemperatur		3 Stunden im Brutschrank bei 37°	
500	++	500	++
1 000	++	1 000	++
2 000	++	2 000	++
3 000	++	3 000	++
5 000	++	5 000	++
10 000	++	10 000	+
20 000	++	20 000	0
Lebende Bacillen	Fickersches Paratyphus A-Diagnost.	Lebende Bacillen	Fickersches Paratyphus A-Diagnost.

## Paratyphus B (Schottmüller).

VII. Immunserum von Kaninchen B<sup>2)</sup>.

12 Stunden bei Zimmertemperatur		3 Stunden im Brutschrank bei 37°	
500	++	500	++
1 000	++	1 000	++
2 000	++	2 000	++
3 000	++	3 000	++
5 000	++	5 000	0
10 000	++	10 000	0
20 000	+	20 000	0
Lebende Bacillen	Fickersches Paratyphus B-Diagnost.	Lebende Bacillen	Fickersches Paratyphus B-Diagnost.

VIII. Immunserum von Kaninchen B<sup>3)</sup>.

12 Stunden bei Zimmertemperatur		3 Stunden im Brutschrank bei 37°	
500	++	500	+
1 000	+	1 000	+
2 000	+	2 000	0
3 000	+	3 000	0
5 000	0	5 000	0
10 000	0	10 000	0
20 000	0	20 000	0
Lebende Bacillen	Fickersches Paratyphus B-Diagnost.	Lebende Bacillen	Fickersches Paratyphus B-Diagnost.

IX. Immunserum von Kaninchen B<sup>4)</sup>.

12 Stunden bei Zimmertemperatur		3 Stunden im Brutschrank bei 37°	
500	++	500	++
1 000	++	1 000	?
2 000	++	2 000	0
3 000	+	3 000	0
5 000	0	5 000	0
10 000	0	10 000	0
20 000	0	20 000	0
Lebende Bacillen	Fickersches Paratyphus B-Diagnost.	Lebende Bacillen	Fickersches Paratyphus B-Diagnost.

X. Immunserum von Kaninchen B Kopf rot<sup>5)</sup>.

12 Stunden bei Zimmertemperatur		3 Stunden im Brutschrank bei 37°	
500	++	500	++
1 000	++	1 000	++
2 000	++	2 000	++
3 000	++	3 000	++
5 000	++	5 000	++
10 000	++	10 000	?
20 000	0	20 000	0
Lebende Bacillen	Fickersches Paratyphus B-Diagnost.	Lebende Bacillen	Fickersches Paratyphus B-Diagnost.

- 1) Entnommen nach einer neuen Einspritzung.
- 2) Immunisiert mit Stamm Schottmüller Fall Seemann. Zeitschr. f. Hyg. und Inf. Bd. XXXVI. p. 368.
- 3) Immunisiert wie No. VII.
- 4) Immunisiert wie No. VII.
- 5) Immunisiert wie No. VII.

**XI. Immunserum von Kaninchen B Ohr rot<sup>1)</sup>.**

12 Stunden bei Zimmertemperatur	
500	++
1000	++
2000	++
3000	++
5000	++
10000	0
20000	0
Lebende Bacillen	Fickersches Paratyphus B-Diagnost.

3 Stunden im Brutschrank bei 37°	
500	++
1000	++
2000	+
3000	?
5000	0
10000	0
20000	0
Lebende Bacillen	Fickersches Paratyphus B-Diagnost.

**Proben im fließenden Wasser.****XII. Immunserum von Kaninchen A gelb (Brion Kayser)<sup>2)</sup>.**

500	++
1000	++
2000	++
3000	++
5000	++
10000	++
20000	0
Fickersches Paratyphus	A-Diagnostikum

**Temperatur 10° C (ca. 12 Std.).****XIII. Immunserum von Kaninchen B Kopf rot (Schottmüller<sup>3)</sup>).**

500	++
1000	++
2000	++
3000	++
5000	+
10000	+
20000	0
Fickersches Paratyphus	B-Diagnostikum

**Gruppenbeeinflussung.****XIV. Immunserum von Kaninchen A gelb (Brion-Kayser).**

50	Spur +
100	0
200	0
300	0
500	0
1000	0
2000	0
3000	0
5000	0
Co	0
Fickersches Paratyphus	B-Diagnostikum

**XV. Immunserum von Kaninchen B Kopf rot.**

50	Spur +
100	0
200	0
300	0
500	0
1000	0
2000	0
3000	0
5000	0
Co	0
Fickersches Paratyphus	A-Diagnostikum

Aus den obigen Tabellen ergeben sich folgende Schlüsse:

1) Die Agglutinierbarkeit des Paratyphusdiagnostikum A und B war bei Zimmertemperatur nach 12 Stunden nur wenig geringer als die meiner jungen lebenden Kulturen von Paratyphus A und B unter denselben Bedingungen. Mit meinen Tierimmunseren haben sich die zwei Paratyphusdiagnostica als brauchbar erwiesen.

2) Nach einem Aufenthalte von 3 Stunden im Brutschrank ergibt ein Vergleich ziemlich dasselbe Resultat.

3) Sowohl das Paratyphusdiagnostikum A und B, als auch die lebenden Bacillen zeigen nach 3-stündigem Aufenthalte im Brutschrank bei 37° eine geringere Agglutination als nach 12-stündigem Stehen in Zimmertemperatur.

4) Wird die Fickersche Probe bei ca. 10° C gehalten, so ist die agglutinierende Wirkung der Seren eine geringere als bei der gewöhnlichen Temperatur bewohnter Zimmer.

5) Das Fickersche Paratyphusdiagnostikum A und B weist nach 12-stündigem Stehen bei Zimmertemperatur zumeist eine stärkere Agglutination auf, als die entsprechenden lebenden Bacillen nach einem 3-stündigen Aufenthalte im Brutschrank bei 37°.

1) Immunisiert wie No. VII.

2) Vergl. Tabelle No. VI.

3) Vergl. Tabelle No. X.

6) Aus Tabelle 14 und 15 geht hervor, daß die gegenseitige Gruppenbeeinflussung noch bei Anwendung von Verdünnung 1:100 gleich Null war. Dies ist von großem Interesse für die Praxis. Wie aus diesen Befunden zu ersehen ist, können also die Paratyphusdiagnostica A und B dem praktischen Arzte gute Dienste leisten <sup>1)</sup>. Zum Erkennen von nicht ganz deutlichen Zusammenballungen ist aber immerhin eine gewisse Uebung erforderlich.

Herrn Oberarzt Dr. Kayser möchte ich an dieser Stelle für die mir freundlichst gewährte Hilfe meinen ergebensten Dank aussprechen.

Nachtrag: Nach Abschluß dieser Untersuchungen erschien Berl. klin. Wochenschrift. 1905. No. 40 von P. P. Klemens eine klinische Arbeit über die drei Merckschen Agglutinationspräparate. Klemens spricht sich darin im allgemeinen für die klinische Brauchbarkeit auch der Paratyphusdiagnostica aus.

Nachdruck verboten.

## Bemerkungen zu dem Aufsatz von Gloger: „Kalium tellurosum in der Medizin und Hygiene“<sup>2)</sup>.

Von B. Gosio (Rom).

In einem unter dem angegebenen Titel in dieser Zeitschrift veröffentlichten Aufsatz kündigt Gloger an, daß seine Untersuchungen über die Funktion des Kalium tellurosum als Indikator des Lebens der Bakterien nach gewissen Seiten hin ein von den meinigen verschiedenes Resultat ergeben haben.

Vor allen Dingen stellt Gloger einige Arten, die sich nur als mehr oder weniger aktiv herausgestellt hatten, als unfähig dar, das Kalium tellurosum zu zersetzen: *B. tuberculosis hominis*, *B. tub. avium*, *B. acidilactici*. — Hierauf stellt er in vergleichenden Tabellen seine und meine Ergebnisse zusammen, indem er diejenigen Reaktionen hervorhebt, welche sich nicht in allen Fällen in Hinsicht auf ihre Intensität entsprechen, d. h. er hat bisweilen eine schwache Reaktion erhalten, wo ich eine starke gefunden habe, und umgekehrt. — Was die Ursachen dieser Verschiedenheiten anbetrifft, so habe ich das, was Gloger selbst sagt, nur zu wiederholen, nämlich daß dieselben „ungleichen und wechselnden Beschaffenheiten der Kulturen und Nährböden“<sup>3)</sup> zuzuschreiben sind, und hebe besonders die Tatsache hervor, daß der Verf. für verschiedene Varietäten des *B. coli* verschiedene Wirkungen erhalten hat<sup>4)</sup> und daß seine Resultate für einige Stämme von *B. aquatilis* positiv ausgefallen sind, während sie für andere negativ waren<sup>5)</sup>. — Außerdem füge ich hinzu, daß der Ausgang eines Experimentes variieren kann, lediglich infolge der verschiedenen Technik, die man befolgt hat. Der Titer der von Gloger angewendeten Telluritlösung ist nie unter 1:25000 herabgegangen: gewöhnlich betrug er 1:5000 bis 1:8000. Wir haben uns dagegen oft weit mehr verdünnter

1) Ueber die gegenseitigen Verhältniszahlen des Vorkommens von Paratyphus sowie Typhus in Straßburg vergl. Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 17.

2) Diese Zeitschrift Bd. XL. Heft 4. p. 584.

3) Ibid. p. 586.

4) Ibid. Note 1.

5) Ibid. p. 587 (Tabelle).

Lösungen bedient, weil einige Keime auch für den Titer 1:25000 empfindlich sind. Auch die Art, wie man den Kontakt der Keime mit dem Reaktiv herstellt, kann einen Einfluß auf das Ergebnis ausüben. Dies gilt für die menschliche, die Rinder- und Vögeltuberkulose, bei denen ich fand, daß das Tellurit schwer vertragen wurde, weshalb ich junge, aber wohlentwickelte Kulturen mit dem Reaktiv in direkte Berührung gesetzt und so immer eine deutliche Reaktion erhalten habe.

Die Verschiedenheiten der Resultate aus den Versuchen mit *B. a. lactici* kann ich mir jedoch nicht erklären, da ich denselben unter die am meisten aktiven Arten klassifizieren müßte. Jedenfalls bemerke ich, daß Gloger in Betreff der kleinen Gruppe von Keimen, die er für unfähig erklärt, das Tellurit zu zersetzen, sich nicht allein mit mir, sondern auch mit Klett in Widerspruch befindet<sup>1)</sup>; der letztere hat in seinen Untersuchungen fast alle in der Tabelle II Glogers enthaltenen Mikroorganismen geprüft und weder für diese, noch für andere irgend welche Ausnahme hervorzuheben gehabt.

Wie man aber auch die verschiedenen Resultate erklären mag, es tritt immer die Tatsache hervor, daß die Versuchsbedingungen, unter denen sich Gloger befand, ihm die Schlußfolgerungen erlaubten, daß einige wenige Mikroorganismen unfähig seien, das Tellurit zu zersetzen. Wenn nun auch diese Tatsache ihn nicht berechtigt, meiner Behauptung zu widersprechen, daß „die Zersetzung des Kaliumtellurits sich bei der großen Mehrheit der verschiedenen Mikrobenklassen zeigt“, weil es sich eben um eine kleine Gruppe handelt, die einer großen Anzahl von Mikroorganismen gegenübersteht, so berechtigt sie ihn doch scheinbar, einen der Hauptpunkte meiner Thesis abzuschwächen, daß nämlich „Flüssigkeiten, in welchen sich keine Spur von Bräunung bemerken läßt, als steril zu betrachten seien, auch wenn sie trübe wären“<sup>2)</sup>. Wer jedoch die ganze Entwicklung meiner Ansicht genau in Erwägung zieht, wird klar erkennen, daß ich bisher nur zwei ganz spezielle Fälle der Praxis der Injektionen in Betracht gezogen habe: denjenigen der gewöhnlichen therapeutischen Sera und denjenigen einiger toten Vaccine (Pest- und Choleravaccin). Außerdem habe ich diese praktischen Fälle zu den häufigsten spontanen Ursachen einer Gefahr in Beziehung gesetzt, wie solche vorkommen können: a) infolge der Gegenwart von nicht sterilem Luftstaub in den Gefäßen wegen der mangelhaften bei der Zubereitung befolgten Technik, b) wegen der nicht völligen Abtötung der spezifischen Keime, die den spezifischen Bestandteil einiger Vaccins bilden: *B. pestis*, *Vibrio cholerae asiaticae*. Hierdurch habe ich meiner Behauptung jeden absoluten Charakter entzogen, um so mehr, als ich vorher selbst bemerkt hatte, „daß bei einigen wenigen Bakterien die Telluritsreduktion mehr oder weniger zögernd erfolgt. Es können hier mehrere Tage verstreichen, während welcher eine Entwicklung ohne irgend eine Reaktion stattfindet, und wenn die letztere auftritt, so ist sie kaum bemerkbar; daß außerdem bei zwei aus Trinkwasser isolierten Bakterien sich gar keine Reaktion gezeigt hat“<sup>3)</sup>.

Es ist durchaus klar, daß diese Aeüßerungen an sich selbst implicite leugnen, daß jede zur Entwicklung der Bakterien geeignete Flüssigkeit

1) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXIII.

2) Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. Bd. LI. p. 124.

3) Loc. cit. p. 78.



immer als steril zu betrachten sei, auch wenn sie trübe ist, in allen Fällen, wo sich in ihr bei Gegenwart des Kalium tellurosum keine Bräunung zeigt. Jedoch das in dem eben erwähnten, eine Restriktion enthaltenden Ausdrucke gestellte Problem erlangt eine positive Bedeutung. Hier hat das Wort „Trübung“ einen sehr bedingten und relativen Sinn: entweder handelt es sich um septischen Staub und dann tritt gewöhnlich eine Symbiose mehrerer Mikrobenarten ein, wodurch die Wahrscheinlichkeit einer Funktion des Indikators wesentlich gesteigert wird; oder es handelt sich um Bakterienkörper, von denen man wissen muß, ob sie nicht alle getötet sind; und in diesem Fall, da es sich um junge Formen handelt, die man in günstige Bedingungen setzen kann, sind sie der Entwicklung und eines aktiven Stoffwechsels fähig; deshalb deuten sie durch die Zersetzung des Tellurits ihre Vitalität an.

Schließlich will ich nicht einmal darauf bestehen, daß niemals Ausnahmen vorkommen können, und hierauf habe ich wiederholt in meiner Arbeit hingewiesen; jedoch ist aus meinen zahlreichen Versuchen hervorgegangen, daß die Wahrscheinlichkeit solcher Ausnahmen sich auf ein unbedeutendes Minimum reduziert. — Jedenfalls sollte diese meine Behauptung nicht in der Weise kontrolliert werden, daß man die unzähligen Mikroorganismen in Reinkulturen Revue passieren läßt und prüft, ob bei irgend welchem die biotellurische Reaktion ausbleibt; vielmehr sollte die Prüfung in der Weise ausgeführt werden, daß man feststellt, in wieviel Fällen einer gewöhnlichen spontanen Verunreinigung eine tellurisierte Nährflüssigkeit die entscheidende Reaktion nicht aufweist. Ueber diesen Punkt werden andere viel ausgedehntere Untersuchungen veröffentlicht werden, die immer zu einem günstigen Ergebnis gelangt sind.

\* \* \*

Ein zweiter Punkt, in welchem ich mich mit Gloger nicht in Uebereinstimmung befinde, ist derjenige, der sich auf die Erklärung des Mechanismus bezieht, mit welchem die Keime die Tellursalze reduzieren.

Gloger sagt in dieser Beziehung: „Die Bildung einer dunklen Verfärbung und eines Niederschlages in Nährböden und Flüssigkeiten unter dem Einfluß des Kalium tellurosum findet nur unter Teilnahme solcher Bakterien statt, welche aus den organischen Verbindungen des Nährbodens den Schwefelwasserstoff absondern; die genannte Erscheinung kann mit der Wirkung des letzteren auf die Tellurverbindungen und mit deren Reduktion erklärt werden“<sup>1)</sup>. Gloger behauptet ferner, daß die gebildete Verbindung Tellursulfid sei<sup>2)</sup>, aber er bringt weder eine analytische Tatsache in Betreff der Identifikation dieser Verbindung bei, noch stützt er seine Erklärung auf direkte Beweise; er beschränkt sich lediglich darauf, festzustellen, daß die H<sub>2</sub>S ausscheidenden Bakterienarten das Tellurit zersetzen, während einige wenige andere, denen die erwähnte Eigenschaft fehlt, dies nicht tun. Offenbar berechtigt das parallele Vorkommen zweier Erscheinungen nicht dazu, sie in ein Verhältnis von Ursache und Wirkung zu setzen; andererseits ist die Untersuchung noch auf zu wenige Arten beschränkt, um festzustellen, ob in Wahrheit alle Keime, welche Schwefelwasserstoff

1) Centralbl. f. Bakt. Bd. XL. Heft 4. p. 585.

2) Ibid. Es wird auch von Te oder TeS ausgesprochen. p. 589.

zu erzeugen unfähig sind, zugleich auch keine Tellurite und Selenite zu reduzieren vermögen. So haben sich Klett und mir einige Arten als unzweifelhaft reduktiv erwiesen, welche Gloger als negativ bezeichnet; und da diese Arten nach Gloger auch außer stande sind,  $\text{H}_2\text{S}$  zu erzeugen, so würde man, wenn es sich in Wahrheit um dieselben Typen handelte, ein wichtiges Kriterium besitzen, um Glogers Meinung ihren Wert zu nehmen.

Bei dem Mangel an genauen und sicheren experimentellen Beweisen, sowie von homogenen Tatsachen, welche einen ausschlaggebenden Vergleich erlauben, beschränke ich mich darauf, einige Erwägungen anzustellen, welche mich verhindern, Glogers Ansicht zu billigen.

Die jungen Kulturen sind, *ceteris paribus*, diejenigen, welche am schnellsten und entschiedensten reagieren. Alte Kulturen reagieren entweder gar nicht oder ergeben sehr langsam erfolgende Schwärzungen. Nun kann man sicherlich nicht behaupten, namentlich von den Nährflüssigkeiten, daß die sehr jungen Kulturen reicher an  $\text{H}_2\text{S}$  seien als die älteren.

Wenn man die Oberfläche einer Kultur, auf der sich viele isolierte Kolonien befinden, mit dem Indikator anfeuchtet, so pigmentieren sich diese Kolonien allein und nicht der Kulturboden; und die Pigmentation beschränkt sich genau auf die Ränder der Zoogloea. Eine Reduktion, die nach Gloger von dem „aus dem Nährboden ausgeschiedenen Schwefelwasserstoff“ abhinge, würde nicht so genau mit der lebenden Zelle verbunden sein, und würde sich auch, bis zu einem gewissen Grade, in der Umgebung derselben, wo sich die Stoffwechselprodukte ausbreiten, bemerklich machen.

Man kann eine höchst deutliche Reduktion des Tellurits erhalten, wenn man die jungen aus Strichkulturen genommenen und in destilliertem Wasser gewachsenen Belege anfeuchtet, um sie von allen fremdartigen Elementen zu befreien. Hier handelt es sich evidenterweise gar nicht um den Kulturboden. Im Gegenteil bleiben Kulturen, die mit aller Vorsicht, um die Stoffwechselprodukte nicht zu zerstören, abgetötet sind, unter gewöhnlichen Bedingungen, bei Berührung mit dem Tellurit unwirksam.

Der Traubenzucker erleichtert das Phänomen der biotellurischen Reduktion. Auch Gloger bestätigt meine Behauptung und gibt von derselben eine zum Teil der meinigen analoge Erklärung, nämlich der Zucker wird unter dem Einfluß der Fermentation in Gegenwart von Bakterien zersetzt und dabei entsteht Milchsäure, welche aus den leicht reduzierbaren Telluriten die tellurige Säure in Freiheit setzt.

Nun ist es aus den Untersuchungen Hirschlers<sup>1)</sup> und den zahlreichen direkten und indirekten Bestätigungen derselben bekannt, daß die Kohlenhydrate die Gärung der Albumine behindern, und im allgemeinen der Fäulnis, in welcher Indol und  $\text{H}_2\text{S}$  unter den Hauptprodukten auftreten, entgegenwirken: den Bakterien Zucker bieten heißt so viel, als die Produktion von Schwefelwasserstoff hemmen. In unserem Fall wird die Reduktion des Tellurits durch den Zucker evidenter gemacht. Ich habe oft Keime gesehen, welche den höchsten Grad von Reduktion der Tellurite ergeben, sobald sie die freie Oberfläche erreichen, d. h. sobald sie in direkten Kontakt mit der atmosphärischen Luft gebracht werden.

Dies steht in Widerspruch zu der Annahme einer Dazwischenkunft

1) Zeitschr. f. physiolog. Chemie. Bd. X. p. 306.

des  $H_2S$ , welches, wie bekannt, sich unter anaërobischen Bedingungen am reichlichsten entwickelt.

Viele Forscher haben aus dem Tier- und Pflanzenreich Substanzen von hohem reduktiven Vermögen darstellen können. In dieser Beziehung ist namentlich die von mir zitierten Arbeiten Maassens hervorzuheben<sup>1)</sup>. Diesem Autor ist es gelungen, aus verschiedenen Klassen von Mikroorganismen die erwähnten Substanzen zu gewinnen und ihre bedeutende Reduktionsfähigkeit auch für Tellurite und Selenite festzustellen. Ich selbst habe diese Tatsachen aus einer Oospora<sup>2)</sup> ableiten können. Diese, weit entfernt, die Ansicht Glogers zu unterstützen, klären uns darüber, auf welches der wirkliche oder wenigstens hauptsächlichste Mechanismus der biotellurischen Reaktion sein muß; nämlich die von der lebenden Zelle absorbierte Verbindung wird mit der spezifischen reduzierenden Substanz, an der das Protoplasma reich ist, in Berührung gebracht und dort wird das Reduktionsprodukt gleichsam sequestriert. Es fehlt uns jedes Kriterium, um hier auch nur die geringste Dazwischenkunft des Schwefelwasserstoffs anzunehmen; übrigens kann  $H_2S$  wohl entstehen, wenn auch freier S zugegen ist, oder wenn es einen Bestandteil labiler Moleküle bildet. In diesem Fall kann die Reduktion der Tellurite auch indirekt gesteigert werden; jedoch kann man nie von einer notwendigen Dazwischenkunft des  $H_2S$  sprechen.

1) Arbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte. Bd. XVIII und XXI.

2) Zeitschr. f. Hygiene u. Inf. Bd. LI. p. 101.

(Schluß folgt.)

---

*Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einreichung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.*

---

## Inhalt.

**Bail, Oskar** und **Weil, Edmund**, Bemerkungen zu dem Aufsatz Citrons: „Ueber natürliche und künstliche Aggressive“. p. 536.

**Bandi, Ivo** und **Simonelli, Francesco**, Zellenparasitismus in der Syphilis, p. 523.

**Buerger, Leo**, Beitrag zur Kenntnis des Streptococcus mucosus capsulatus. (Schluß.), p. 511.

**Doerr, R.**, Ueber die infektiösbefördernde Wirkung steriler Exsudate, p. 497.

**Eisenberg, Philipp**, Weitere Untersuchungen über den Mechanismus der Agglutination und Präzipitation. (Forts.), p. 539.

**Fichera, G.**, Zur Kenntnis der Immunisierungsverhältnisse der Choleravibrien, p. 576.

**Ghon, A., Mucha, V. und Müller, R.**, Beiträge zur Kenntnis der anaëroben Bakterien des Menschen. IV. Zur Ätiologie der akuten Meningitis. (Forts.), p. 504.

**Gosio, B.**, Bemerkungen zu dem Aufsatz von Gloger: „Kalium tellurosum in der Medizin und Hygiene“, p. 588.

**Hefferan, Mary**, Agglutination and biological relationship in the prodigious group, p. 553.

**Klaptoz, Bruno**, Polyonchobothrium polypteri (Leydig), p. 527.

**Minelli, Spartaco**, Agglutinierbarkeit der Fickerschen Paratyphusdiagnostica, p. 583.

**Müller, Reiner**, Zur Ätiologie der Geflügeldiphtherie. (Forts.), p. 515.

**Porges, O. und Frantschoff, A.**, Ueber die Agglutinabilität von Bakterien, besonders des B. typhi. (Forts.), p. 546.

**Rothberger, Jul. C.**, Ueber die Regeneration der Agglutinine nach Blutverlusten. (Schluß.), p. 562.

**Shibayama, G.**, Ueber die Wirkung der bakteriologischen Heilsera bei wiederholten Injektionen, p. 571.

Nachdruck verboten.

## Ueber die infektionsbefördernde Wirkung steriler Exsudate.

[Aus dem staatlichen serotherapeutischen Institut in Wien. Vorstand: Prof. R. Paltauf.]

Von Dr. R. Doerr, k. u. k. Regimentsarzt.

(Schluß).

### I.

1. Passage. Meerschweinchen No. 271, 263, 223, 272, 266, 270 erhalten je 0,7 Agarkultur (Cholera) am 22. März i. p. 270 überlebt, die anderen † am 23. März. — Die Exsudate werden gemengt und je 3 ccm davon behufs einer

2. Passage den Tieren 273, 274, 269, 268, 267 i. p. injiziert. Sämtliche † nach 10<sup>h</sup>. Ihre Exsudate werden abermals gemengt. Das Gemisch tötet Meerschweinchen 276 in der Menge von 2 ccm nach 6<sup>h</sup>. Der Rest wird zentrifugiert, toluolisiert und stellt das zum Versuch verwendete Aggressin dar.

Meerschweinchen	290	0,01	lebende Cholerakultur	+	0
"	289	0,01	"	+ 2 ccm Aggressin	† nach 24 <sup>h</sup>
"	291	0,001	"	"	0
"	292	0,001	"	+ 2 ccm Aggressin	0
"	275	dasselbe wie 292	"	"	0
"	288	0,0001	lebende Cholerakultur	"	0
"	287	0,0001	"	+ 2 ccm Aggressin	0
"	294	dasselbe wie 287	"	"	0

Es starb also nur ein Aggressintier und zwar dasjenige, bei dem die Menge der lebenden Vibrionen so groß war, daß sie (siehe Tabellen) bisweilen auch an sich wirksame Infektionen provozieren kann.

Noch instruktiver gestaltete sich ein ähnlicher Versuch.

### II.

1. Passage. Meerschweinchen 282, 281, 280, 279, 283, 284 je 1 Cholerakultur i. p. (25. März) 281 und 282 überleben. Die anderen † am 26. März. Vom Exsudatgemenge erhalten je 3 ccm i. p.

2. Passage. Meerschweinchen 300, 286, 293 und 285. 285 überlebt, die anderen † nach 9<sup>h</sup>. Das Exsudatgemisch tötet nach 8<sup>h</sup> in der Dosis von 0,5 ccm und dient als „aggressive“ Flüssigkeit.

Meerschweinchen	81	0,01	Cholerakultur	+	0
"	80	0,01	"	+ 2 ccm Aggressin	0
"	79	0,005	"	"	0
"	61	0,005	"	+ 2 ccm Aggressin	0
"	82	0,001	"	† nach 60 <sup>h</sup> (1), leichte Infektion, Vibrionen im Peritoneum nur kulturell, Exsudat eiterig, reichliche Leukocyten, 1 Oese Herzblut = 50 Kolonien)	
"	298	0,001	"	+ 2 ccm Aggressin † nach 24 <sup>h</sup> (dasselbe Bild wie 82, nur sind die Vibrionen auch mikroskopisch sichtbar; reichliche Phagocyten; 1 ccm dickliches, eiteriges Exsudat)	

Man kann wohl sagen, daß ohne Zuhilfenahme einer ganz bedeutenden Variabilität der individuellen Resistenz insbesondere dieser zweite Versuch völlig unverständlich bleibt; eine „Aggressinwirkung“ kann niemand herauslesen. Von Interesse ist es auch, daß bei der zweiten Passage ein Tier (No. 285) die Injektion von 3 ccm Exsudat überlebte, während 3 andere akut eingingen. Nun sollte doch das unbehandelte Exsudat die aggressiven Bakterien und das sezernierte Aggressin enthalten, müßte also auf jeden Fall wirken, besonders wenn man in Betracht zieht, daß dieses Exsudat so viel Keime in 3 ccm enthielt, wie etwa

0,1 Kultur (30 Milliarden). In einem anderen Versuch, die Dosis letalis eines Choleraexsudates zu bestimmen, war das Resultat folgendes:

Meerschweinchen	296	2,0 ccm	ø
„	295	1,0 „	† in 8 <sup>h</sup>
„	297	0,5 „	† in 10 <sup>h</sup>

P. Th. Müller<sup>1)</sup> hat eben nur zu sehr Recht, wenn er sagt, „daß der einseitige Standpunkt, welcher das Hauptgewicht auf die Mikroorganismen legt und die Eigenschaften des infizierten Tierkörpers in den Hintergrund drängt, eine der so häufigen unerlaubten Vereinfachungen wissenschaftlicher Fragen darstellt.“ Der bedeutende Einfluß dieser individuellen Widerstandsfähigkeit wird allerdings erst dann klar, wenn man, wie im vorstehenden, die Versuche an größeren Tierreihen anstellt; diese Notwendigkeit wurde schon seinerzeit gegenüber Kikuchi betont. Die Zahl der von Bail und seiner Schule angestellten Experimente ist gewiß enorm; zum Einzelversuch aber wurden fast immer nur sehr wenige Tiere verwendet. Waren auch hier schon die Ergebnisse schwankend, so lag doch die Versuchung nahe, die positiven Einzelresultate im Sinne einer vorgefaßten Meinung zu verwerten.

Durch Vorbehandlung von Tieren mit „Aggressinen“, deren stoffliche Natur Bail nicht recht zugeben will, und die er zunächst nur als „materialisierte Eigenschaften“ bezeichnet, sollen „Antiaggressine“ gebildet werden, die ins Blutserum übergehen und eine aktive oder passive Immunität verleihen, indem sie die „Aggressivität“ der Bakterien paralisieren. Sie wirken nach Bail nicht bakteriolytisch. Von der Bakterizidie hält die „Aggressinlehre“ überhaupt nicht viel und es muß zugegeben werden, daß die Bakteriolyse in der Tat nicht alle Phänomene der Immunität bei der Cholera oder beim Typhus zu erklären vermag. Im aktiv und passiv gegen Typhusbacillen immunisierten Organismus halten sich Typhusbacillen ebenso gut wie im nichtimmunisierten. Trotz hohem bakteriolytischen Titre des Blutes und der Körperflüssigkeiten gelangen bei typhusimmunem Kaninchen intravenös injizierte Typhusbacillen lebend in alle Organe, bleiben dort in denselben Mengen nachweisbar, wie beim nichtvorbehandelten Kontrolltier [Bail<sup>2)</sup>] und wuchern in der Gallenblase monatelang fort [Doerr<sup>3)</sup>, Forster u. Kayser<sup>4)</sup>]. Genau dasselbe Verhalten zeigen die Typhusbacillen auch in den Organen und der Gallenblase des typhusimmunen Menschen.

Die Aggressinimmunität schützt aber in dieser Richtung ebenso wenig.

Kaninchen No. 76, 2210 g, erhält am 8. Febr. 1,2 ccm Typhusaggressin intravenös. Am 21. Febr. 2 ccm Aggressin intravenös. Am 8. März 3 ccm und am 20. März 2 ccm Aggressin subkutan. Am 30. März 2 Oesen Typhusagarkultur intravenös. Getötet nach 2 Tagen. Im Blute keine, in allen Organen, besonders Leber, Knochenmark, ferner in der Galle, außerordentlich reichliche Typhusbacillen.

Ebensowenig konnte ich mich bei einigen Vorversuchen von dem Bestehen einer aktiven „Aggressinimmunität“ überzeugen.

# I.

Meerschweinchen No. 52 1 ccm Staphylokokken-„Aggressin“ am 1. Nov. subkutan, am 12. Nov.  $\frac{1}{2}$  Agarkultur Staph. aur. intraperit. † nach 18<sup>h</sup>. (Enorm reichliche Kokken, reichliche Phagocyten.)

- 1) Vorlesungen über Infektion und Immunität. Jena 1904.
- 2) Arch. f. Hyg. Bd. LII.
- 3) Centralbl. f. Bakt. 1905.
- 4) Münch. med. Wochenschr. 1905.

Meerschweinchen 49 am 1. Nov. 0,1 Agarkultur abgetötet subkutan. Am 12. Nov.  $\frac{1}{10}$  Agarkultur Staph. aur. i. p. Kapillarentnahme zeigt nach 30', 1<sup>h</sup> und 2<sup>h</sup> reichlichste Phagocytose. Ueberlebt ohne besondere Krankheitserscheinungen.

## II.

Meerschweinchen No. 68, am 1. Nov. 1 ccm Typhusaggressin subkutan		No. 66 $\frac{1}{10}$ Agarkultur abgetötet subkutan
Kapillarentnahme	am 12. Nov. je 0,2 lebende Ty-Kultur i. p.	
nach 15'	sehr reichlich Bacillen, sehr spärliche Phagocyten	keine Bacillen, keine Phagocyten
„ 30'	zahlreiche Bacillen, vereinzelte Phagocyten	dto.
„ 1 <sup>h</sup>	enorm reichliche Bacillen, keine Phagocyten	dto.
„ 2 <sup>h</sup>	enorm reichliche Bacillen, einige Phagocyten	dto.
Resultat	+ nach 18 <sup>h</sup> , mikroskopisch enorm reichliche Bacillen, spärliche Leucocytose	überlebt ohne besondere Krankheitserscheinungen

## III.

Meerschweinchen 45, 1 ccm Dysenterieaggressin (1. Nov.)		No. 55, $\frac{8}{10}$ Dysenteriekultur abgetötet subkutan
Kapillarentnahme	am 12. Nov. je $\frac{1}{2}$ lebende Dysenterieagarkultur	
nach 15'	reichlich Bacillen und Phagocyten	spärliche Bacillen, vereinzelte Phagocyten
„ 30'	enorm reiche Bacillen, spärliche Phagocyten	reichliche Bacillen, vereinzelte Phagocyten
„ 1 <sup>h</sup>	dto.	spärliche Bacillen, reichl. Phagocyten
„ 2 <sup>h</sup>	enorm reichl. Bacillen, sehr spärliche Phagocyten	sehr spärliche Bacillen, reichlichste Phagocyten
Resultat	+ nach 20 <sup>h</sup> , reichliche Bacillen, vereinzelte Phagocyten, klares, reichliches Exsudat	überlebt

Die mit „Aggressin“ vorbehandelten Tiere waren also nichts weniger als immun; auch das Verhalten der Phagocyten entsprach nicht den Postulaten Bails. Im Versuch III ging die anfängliche Phagocytose beim „Aggressintier“ rasch zurück, während sie sich beim aktiv mit abgetöteter Kultur immunisierten beständig steigerte.

Weitere Versuche über aktive oder passive „Aggressinimmunität“ hier mitzuteilen, hätte keinen Zweck. Die positiven Resultate Bails und seiner Mitarbeiter erklären sich fast alle aus der verschiedenen Resistenz der Versuchstiere, namentlich wenn (wie zum Teil bei Salus) hochgewichtige Meerschweinchen (300—400 g) verwendet und Kontrollen mit Normalserum (bei passiver Immunität) unterlassen werden. Nur bei der Cholera liegen die Verhältnisse vielleicht anders. Es ist nach den (inzwischen veröffentlichten) Untersuchungen von R. Kraus über antitoxische Choleraimmunität nicht unmöglich, daß man durch Injektion schwach toxischer, toluolisierter Exsudate, antitoxische Sera bekommt, welche das Tier trotz Vermehrung der Bakterien im Peritoneum also ohne bakteriolytische Wirkung schützen. Darüber soll an anderer Stelle berichtet werden.

Es ergeben sich demnach folgende Schlußsätze:

1) Die durch Bakterien (Cholera-vibrionen, Typhusbacillen, Dysenteriebacillen, Staphylokokken) erzeugten Peritonealexsudate enthalten variable Mengen gelöster, durch spezifische Präzipitine nachweisbarer Bakterien-substanzen; sie führen zur Entwicklung derselben Immunkörper, so daß kein Grund besteht, die toxische Wirkung solcher Exsudate von der der darin gelösten Bakterien-substanzen zu differenzieren.

2) Es wäre daher möglich, daß derartige Exsudate eine infektionsbefördernde Wirkung besitzen analog den Bakterienextrakten und Bakteriengiften.

3) Der experimentelle Nachweis einer solchen Infektionsbeförderung wird jedoch sehr erschwert, ja ist einwandsfrei kaum zu erbringen, weil die individuelle Disposition der Versuchstiere gegen „subletale“ Dosen lebender Bakterien eine außerordentlich variable ist. Die nicht genügende Berücksichtigung dieses Umstandes täuscht bei kleineren Versuchsreihen leicht Erfolge in der einen oder anderen Richtung vor.

### Versuchsprotokolle.

Hier seien zunächst einige Bemerkungen über die Anordnung der Versuche gestattet.

Verwendet wurden nur ungebrauchte Meerschweinchen von 230 bis 250 g, für die Cholera-versuche von 150 oder 200 g. Insbesondere wurden zu jedem Einzelversuche die Tiere derart ausgesucht, daß ihr Körpergewicht höchstens um 15 g differierte.

Die injizierten Kulturen waren auf schrägem Agar angelegt, jedesmal 20 Stunden alt, und während der ganzen Versuchszeit nie durch Tiere passiert. Von jeder Bakterienart gelangte nur ein Stamm zur Verwendung.

Der Cholera-stamm (Pfeiffer) erwies sich agglutinatorisch und durch fehlende Hämolyse- und Toxinbildung (R. Kraus) zweifellos als echte Cholera. Er war seit dem Beginne bis zum Abschlusse der Versuche nie durch Meerschweinchenpassage in seiner Virulenz beeinflusst worden. Die Typhusbacillen (aus der Milz einer Typhusleiche), sowie die Dysenteriebacillen (Typus Kruse aus dysenterischem Stuhl kultiviert) waren durch 2 Jahre, die Staphylokokken (aus einer Pyämie) durch 1 Jahr lediglich auf Nährböden gehalten worden.

Die Dosierung geschah nach Bruchteilen lebender Kultur auf Schrägagar. Um sie möglichst gleich zu gestalten, wurden gleich weite Eproutetten mit je 10 ccm Agar gefüllt und gleichmäßig schräggelegt, so daß die Oberfläche als annähernd konstant genommen werden konnte. Die Kulturen wurden in einer bestimmten Menge NaCl-Lösung aufgeschwemmt und die geringeren Dosen für jede Versuchsreihe durch Verdünnung dieser Stammemulsion mit sterilen Pipetten hergestellt, so daß 1 ccm Flüssigkeit jedesmal die betreffende Einzeldosis enthielt. Zum mindesten waren daher die zu einem Versuche verwendeten resp. an einem Tage injizierten, als gleich angegebenen Bakterienmengen auch wirklich gleich. Aber auch behufs Vergleichung der Versuche untereinander dürfte diese Dosierung genauer sein, da durch das Verdünnen der Stammemulsion die unvermeidlichen Unregelmäßigkeiten jedenfalls zum Teil ausgeglichen wurden.

Alle verwendeten Tiere wurden sezirt, Deckglasausstrichpräparate von der Leberoberfläche und dem Peritonealexsudat, sowie Kulturen aus letzteren und mit 1 Oese Herzblut auf Schrägagar angelegt.

## 1. Versuch (25. Okt. 05).

(Die Abtötung der Kulturen erfolgte durch einstündiges Erwärmen auf 58° C im Wasserbade.)

Meerschweinchen No. 62 (Kontrolle), 0,2 lebende 20-stündige Dysenterieagarkultur (Kruse); i. p. Ueberlebt ohne besondere Krankheitserscheinungen.

Meerschweinchen No. 18 und No. 46 je 0,2 derselben Kultur abgetötet intrap. Ueberleben.

Meerschweinchen No. 6, 0,2 lebende + 0,2 abgetötete Kultur, † nach 6 Stunden. Reichliches, gelbliches, schwach getrübbtes Exsudat. Mikroskopisch sehr reichliche Bacillen, keine Phagocyten.

Meerschweinchen No. 1, 0,2 lebende + 0,1 abgetötete Kultur, † nach 20<sup>h</sup>. Der gleiche Obduktionsbefund wie No. 6.

Meerschweinchen No. 12, 0,1 lebende + 0,1 abgetötete Kultur, † nach 20<sup>h</sup>. Sulziges Oedem an der Injektionsstelle. Sonst der gleiche Befund wie No. 6 und No. 1.

## 2. Versuch (25. Okt. 05).

Meerschweinchen No. 41 und No. 304 je 0,2 lebende Agarkultur von Staph. aur. Ueberlebt.

Meerschweinchen No. 13, 0,2 abgetötete Staphylokokkenkultur. Bleibt glatt.

Meerschweinchen No. 24, 0,2 lebende + 0,2 abgetötete Kultur, † nach 20<sup>h</sup>. Reichliches, stark getrübbtes Exsudat, sulziges Oedem der Injektionsstelle. Staphylokokken sehr reichlich. Ausgeprägte Phagocytose.

Meerschweinchen No. 4, 0,2 lebende + 0,1 abgetötete Kultur. Bleibt glatt.

## 3. Versuch (25. Okt. 05).

(Als Kontrollen dienten die zugleich geimpften Tiere No. 62 und No. 13.)

Meerschweinchen No. 15, 0,2 lebende Dysenterie + 0,2 abgetötete Staphylokokkenkultur, † 26. Okt. Reichliches, fast klares, nur schwach rötlich gefärbtes Exsudat, sulzige Infiltration des Unterhautzellgewebes. Reichliche Bacillen, keine Phagocyten.

Meerschweinchen No. 78, in gleicher Weise geimpft, ist am nächsten Tage krank, überlebt aber.

## 4. Versuch (25. Okt., dieselben Kontrollen).

Meerschweinchen No. 5, 0,2 lebende Staphylokokken + 0,2 abgetötete Dysenteriekultur, † nach 20<sup>h</sup>. Reichliches, leicht getrübbtes Exsudat. Reichlichste Kokken, spärliche Phagocyten.

## 5. Versuch (7. Nov.).

Meerschweinchen No. 87, 0,2 lebende Staphylokokken, † nach 48<sup>h</sup>. Reichlichste Phagocytose. 0,5 ccm Exsudat, dick, eiterig.

Meerschweinchen No. 83, 0,2 lebende Staphylokokken + 0,2 abgetötete Dysenteriekultur, † nach 18<sup>h</sup>. 2 ccm stark getrübbtes, dünnflüssiges Exsudat, sehr reichliche Kokken, spärliche Phagocyten.

Meerschweinchen No. 72, 0,2 lebende Staph. + 0,1 abgetötete Dysenteriekultur, † nach 20<sup>h</sup>. Derselbe Obduktionsbefund wie No. 83.

Meerschweinchen No. 86, 0,1 lebende Staph. + 0,2 Dysenterie abgetötet. Ueberlebt.

Meerschweinchen No. 80, 0,1 lebende Staph. + 0,1 Dys. (abgetötet), † nach 20<sup>h</sup>. Derselbe Befund wie No. 83.

## 6. Versuch (10. Nov.).

(Wiederholung des vorigen.)

Meerschweinchen No. 94 mit 0,2 lebender Staphyl. Bleibt glatt. Ebenso

Meerschweinchen No. 92 mit 0,1.

Meerschweinchen No. 96, geimpft wie 83, † nach 20<sup>h</sup>. Spärliche Phagocytose.

Meerschweinchen No. 91, geimpft wie 72, † nach 20<sup>h</sup>. Spärliche Phagocytose.

Meerschweinchen No. 95, geimpft wie 86, † nach 20<sup>h</sup>. Spärliche Phagocytose.

Meerschweinchen No. 93, geimpft wie 80, überlebt.

## 7. Versuch (22. Febr. 06).

(Abtötung durch Chloroform.)

Meerschweinchen No. 150, 0,025 lebende Cholerakultur. Ueberlebt.

Meerschweinchen No. 149, 0,3 abgetötete Cholerakultur, überlebt, geht marantisch nach 17 Tagen ein.

Meerschweinchen No. 153, 0,5 abgetötete Cholerakultur überlebt, stirbt nach 4 Tagen, Peritoneum steril.

Meerschweinchen No. 168, 0,025 lebende + 0,1 abgetötete Kultur, überlebt.

Meerschweinchen No. 172, 0,025 lebende + 0,3 abgetötete Kultur, † nach 20<sup>h</sup>. 1 ccm sehr trübes Exsudat, mäßige Phagocytose.



Meerschweinchen No. 173, 0,025 lebende + 0,5 abgetötete Kultur, † nach 14 Stunden. 6 ccm klares Exsudat, reichliche Vibrionen, keine Phagocyten.

#### 8. Versuch (7. Nov.).

Meerschweinchen No. 79, 0,01 ccm Diphtherietoxin, überlebt, geht nach 8 Tagen ein.

Meerschweinchen No. 77, 0,2 lebende Dysenteriekultur überlebt, geht nach 8 Tagen ein.

Meerschweinchen No. 74, 0,2 lebende Dysenteriekultur + 0,01 Diphtherietoxin, † nach 20<sup>h</sup>. Gelbliches, leicht getrübbtes Exsudat, sehr reichliche Bacillen, keine Phagocyten.

#### 9. Versuch (16. Okt.).

Meerschweinchen No. 94 und No. 92 vom 10. Nov., ferner No. 41 und No. 304 vom 25. Okt. können als Kontrollen betrachtet werden (je 0,2 Staphylokokkenkultur lebend). Alle überlebten.

Meerschweinchen (unbez.), 1,5 ccm Staphylokokkenexsudat toluolisiert, zentrifugiert und von Toluol<sup>1)</sup> befreit. Marantisch eingegangen nach 6 Tagen.

Meerschweinchen No. 33, 3 ccm dieser Flüssigkeit, marantisch eingegangen nach 30 Tagen.

Meerschweinchen No. 35, 32 und 34 je 0,2 lebende Staphylokokken + 2 ccm der Flüssigkeit. Ueberleben sämtlich.

#### 10. Versuch (13. März).

Meerschweinchen No. 235, 0,01 lebende Cholerakultur, † nach 48<sup>h</sup>. 0,5 ccm, eiteriges Exsudat, längere Spirillen und Fäden. Herzblut (1 Oese) enthält 100 Kolonien(!), starke Phagocytose.

Meerschweinchen No. 233, 0,01 Cholerakultur + 2 ccm Aggressin I (Exsudat in derselben Dose hochwirksam), überlebt.

#### 11. Versuch (1. März).

Meerschweinchen (Kontrolle), 0,02 lebende Cholerakultur. Ueberlebt.

Meerschweinchen 400, 0,02 + 1 ccm Aggressin II (aus wirksamem Exsudat, Dosis letalis = 1 ccm). Ueberlebt.

Meerschweinchen No. 401, 0,02 Kultur + 2 ccm Aggressin II. Ueberlebt.

Meerschweinchen No. 402, 0,02 Kultur + 3 ccm Aggressin II. Ueberlebt.

#### 12. Versuch (20. Febr.).

Meerschweinchen No. 154, 0,02 Cholerakultur + 1 ccm Aggressin III (Exsudat wirksam, Dos. let. = 1 ccm). Ueberlebt.

Meerschweinchen No. 155, 0,02 Kultur + 2 ccm Aggressin III, überlebt.

#### 13. Versuch (18. Febr.).

Meerschweinchen No. 135, 0,03 Cholerakultur, † 20. Febr.

Meerschweinchen No. 125, 0,03 Kultur + 0,5 ccm Aggressin IV (Exsudat tödlich in der Dose von 2 ccm), überlebt(!).

Meerschweinchen 132, 0,03 Kultur + 1 ccm Aggressin IV, † 19. Febr.

Meerschweinchen No. 122, 0,03 Kultur + 0,5 ccm Aggressin V (Dosis letalis des frischen Exsudates 1 ccm), † 19. Febr.

Meerschweinchen No. 126, 0,03 Kultur + 1,0 ccm Aggressin V, überlebt!!

#### 14. Versuch (8. März).

Meerschweinchen No. 210, 0,03 Typhuskultur, überlebt. Marantisch eingegangen nach 21 Tagen.

Meerschweinchen No. 207, 0,03 Typhuskultur + 2 ccm Typhusaggressin I, lebt noch heute.

Meerschweinchen No. 220 (11. März). 0,03 Typhuskultur + 1 ccm Typhusaggressin II, lebt.

Meerschweinchen No. 211 (8. März). 0,03 Typhuskultur + 1 ccm Typhusaggressin III, † nach 24<sup>h</sup>. 1 ccm trübes Exsudat, reichlich Bacillen, spärliche Leukocyten.

#### 15. Versuch (16. Okt.).

Meerschweinchen No. 403, 0,2 Staphylokokkenkultur + 2 ccm Dysenterieaggressin, † nach 20<sup>h</sup>.

Vide Versuch No. 9, wo dieselben Staphylokokken und Staphylokokkenaggressin unwirksam waren.

1) Der Kürze halber sollen derart behandelte Exsudate im folgenden als Aggressine bezeichnet werden, ohne daß damit für das Weiterbestehen dieses Wortes plaidiert wird.

Schwanken der Infektiosität lebender Cholerakultur bei intraperitonealer Injektion von Meerschweinchen (200 g) in je 2 ccm physiol. NaCl-Lösung emulgiert.

No.	Dosis (inj. Agar-kulturen)	Datum	Resultat	Sektionsbefund	Anmerkung
202	1,0	7. März	ø	—	—
281, 282	je 1,0	25. März	ø	—	4 andere Tiere mit derselben Dosis in 18 <sup>h</sup> + unter dem Bilde einer schweren Infektion
270	0,7	22. März	ø	—	5 andere Tiere mit derselben Dosis gleichzeitig geimpft, † in 16 <sup>h</sup> (schwere Infektion)
221	0,4	11. März	+ 12. März	4 ccm dünnflüssiges Exsudat, starke Fibrinbildung auf der Leber. Dasselbst mikrosk. ausge dehnte Phagocytose (!)	—
225	0,4	11. März	+ 12. März	3 ccm dünnflüss. Exsudat, keine Auflagerungen auf der Leber, keine Phagoc.	—
213	0,2	11. März	ø	—	—
222	0,2	11. März	+ 12. März	0,5 dickes, eiteriges Exsudat, Fibrinauflagerungen, ausgedehnteste Phagocytose	112 mit ders. Dosis am 4. Febr. überlebt
224	0,1	11. März	+ 12. März	3 ccm dünnflüss. Exsudat, keine Fibrinauflagerungen, sehr spärliche Phagocyten (!)	—
205	0,1	11. März	ø	—	115 mit ders. Dosis am 4. Febr., † nach 16 <sup>h</sup>
209	0,07	11. März	ø	—	—
119	0,07	11. März	+ 12. März	wie 224	—
217	0,05	11. März	+ 12. März	1 ccm dickes Exsudat, in 1 Oese Herzblut 200 Kolonien, reichliche Phagocytose	113 mit derselben Dosis überlebt (4. Febr.)
227	0,05	11. März	ø	—	—
113, 121	je 0,05	4. Febr., 17. Febr.	ø	—	—
216	0,025	11. März	+ 12. März	1 ccm Exsudat dünnflüss., 1 Oese Herzblut, zusammenhängender Rasen. Reichliche Vibrionen, vereinzelte (!) Phagocyten	—
106	0,02	4. Febr.	ø	—	—
235	0,01	13. März	+ 15. März	0,5 eiteriges Exsudat. Aus 1 Oese Herzblut zusammenhängend. Rasen. Mäßige Phagocytose	117 mit ders. Dosis am 4. Febr. überlebt

Wirkung lebender 20-stündiger Choleraagarkultur, intraperitoneal injiziert, bei Meerschweinchen von 150 g. Alle Tiere mit derselben Emulsion geimpft am 17. März. 10<sup>b</sup> a. m. mit Ausnahme von 82.

No.	Injizierte Agarkulturen	Resultat	
260	0,5	ø	—
241	0,5	† 18. März früh	—
240, 255	je 0,4	† 18. März	—
249, 253	je 0,2	† 18. März	—
250	0,1	† 18. März	—
248	0,1	ø	—
239	0,05	† 18. März	—
259	0,05	ø	—
238	0,025	† 18. März	—
245	0,025	ø	—
258	0,01	† 18. März	—
243	0,01	ø	—
242, 246	0,005	ø	schwer krank am 17. März Nachmittag
252, 247	0,001	ø	—
82 (27. März)	0,001	† nach 60 <sup>b</sup>	Kultur aus Periton. + 1 Oese Herzblut = 50 Kolonien, Exsudat eiterig, reichliche Phagocyten

#### 16. Versuch (21. Okt.).

Meerschweinchen No. 404, 0,2 Staphylokokkenkultur + 3 ccm eines anderen Dysenterieaggressin, † in 16<sup>b</sup>. Reichliches Peritonealexsudat, mäßige Phagocytose.

#### 17. Versuch (13. März).

Meerschweinchen No. 228, 0,03 lebende Typhuskultur, überlebt.

Meerschweinchen No. 234, lebende Typhus-Kultur + 2 ccm Cholera-Aggressin I, † nach 14<sup>b</sup>. 2 ccm dünnflüssiges, gelbliches Exsudat. Auf der Leber wenig Fibrin. Mikroskopisch im Exsudat reichliche Bacillen, ganz vereinzelt Phagocyten. Kultur aus Herzblut positiv.

#### 18. Versuch (22. Okt.).

Meerschweinchen No. 405, 0,2 lebende Dysenteriekultur (Kruse), überlebt. Marantisch eingegangen mit sterilem Peritoneum nach 8 Tagen.

Meerschweinchen No. 406, 0,2 lebende Dysenteriekultur + 2 ccm Staphylokokkenaggressin (Staphyl. albus), † nach 20<sup>b</sup>. Reichliches Peritonealexsudat, mäßig reichliche Bacillen. Mäßige Phagocytose.

Meerschweinchen No. 302, 0,2 lebende Dysenteriekultur + 3 ccm Staph. aur.-Aggressin, † nach 6 Stunden. Reichliches, dünnflüssiges Peritonealexsudat, reichliche Bacillen, keine Phagocyten.

#### 19. Versuch (4. April).

Meerschweinchen No. 407, 0,03 Typhuskultur ø.

Meerschweinchen No. 408, 0,01 Cholerakultur ø.

Meerschweinchen No. 409, 0,03 Ty + 0,01 Cholerakultur, † in 10<sup>b</sup>. 3 ccm leichtgetrübbes, lichtgelbes Exsudat. Keine Fibrinauflagerungen. 1 Oese Herzblut 200 Kol. (Typhus). Mikrosk. im Exsudat und auf der Leberoberfläche reichlichste Typhusbacillen, keine Vibrionen (!), keine Phagocyten.

#### 20. Versuch (20. Okt.).

Meerschweinchen No. 79 als Kontrolle (siehe Versuch 9), ferner No. 41 und No. 304 aus Versuch 2. No. 94 und 91 aus Versuch 6.

Meerschweinchen No. 221, 0,2 lebende Staphyl. + 0,01 Diphtherietoxin, † nach 24<sup>b</sup>.

Meerschweinchen No. 301, 0,2 lebende Staphyl. + 0,001 Diphtherietoxin, † nach 16<sup>b</sup>, reichliche Peritonealflüssigkeit, mit reichl. Staphyl.

Meerschweinchen No. 85, 0,2 lebende Staphyl. + 0,01 wie 221, † nach 28<sup>b</sup>, aber

Meerschweinchen No. 300, 0,2 lebende Staphyl. + 0,005 überlebt.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber im Körper latente Bakterien und die Möglichkeit ihrer Verbreitung im Organismus.

[Aus dem pathologischen Institut der k. Universität Pisa  
(Prof. Cesaris-Demel).]

### Experimentelle Untersuchungen von Dr. F. Soprana.

Im Jahre 1904 machte Vincent die Beobachtung, daß sich der Tetanusbacillus auf der Stichwunde einer nach allen aseptischen Vorichtsmaßregeln ausgeführten Chinininjektion entwickeln kann, nachdem er daselbst von einer entfernten Stelle des Organismus eingewandert ist, wo er sich, aus Mangel an günstigen Entwicklungsbedingungen, in latentem Zustande verhielt.

Dieser Vorgang konnte, nach V., auch sehr leicht auf experimentellem Wege hervorgebracht werden: Es genügte, unter die Haut eines Meerschweinchens seitlich in der Lendengegend 0,05 ccm einer Tetanusbouillonkultur zu bringen, die vorher durch Erhitzung auf 80° während 3 Stunden ihrer Toxine beraubt wurde. Nach einigen Tagen bekommt dann das Tier an der entgegengesetzten Seite 0,02—0,05 g einer wässrigen sterilisierten Lösung von Chlorhydratum chinini eingespritzt. Ein so behandeltes Tier erlag nach wenigen Tagen dem Tetanus, während die Kontrolltiere, die bloß der einen oder der anderen der beiden Injektionen unterzogen wurden, keinerlei Gesundheitsstörung zeigten. Am frischen Präparate und durch Anlegung von Kulturen konnte dann die Anwesenheit zahlreicher Bacillen von Nicolaier an der Stelle der Chinininjektion dargelegt werden, während dieselben an der Injektionsstelle der Tetanuskultur entweder ganz fehlten oder doch nur sehr spärlich vorkamen. In letzter Zeit hat ferner Tarozzi bewiesen, daß die in irgend ein Organ hineingelangten Tetanussporen, obgleich sie sich auf die Dauer der zerstörenden Einwirkung der tierischen Schutzmittel nicht zu entziehen vermögen, doch eine Zeitlang daselbst latent leben und während dieser Zeit infolge traumatischer Eingriffe, die das sie beherbergende Gewebe nekrotisieren, den Ausbruch des Tetanus herbeiführen können. Die Wichtigkeit dieser Beobachtungen sowohl für die Prophylaxe, als auch wenn es sich darum handelt, die eventuelle Responsabilität des Arztes in den leider nicht allzu seltenen Fällen von Tetanusinfektion infolge therapeutischer Eingriffe festzustellen, ist eine so augenfällige, daß sie keiner besonderen Darlegung meinerseits bedarf.

Sollte es sich jedoch zeigen, daß diese Beobachtung auch für andere Mikroorganismen und in der Folge irgend einer beliebigen aseptischen Verletzung ihre volle Geltung wahrte, so würde ihr Interesse dadurch natürlich um ein Erhebliches gesteigert, denn es wäre damit bewiesen, daß ein an einer entfernten Körperstelle lokalisierter Mikroorganismus ohne Septikämieerscheinungen zu einem aseptisch verletzten Organe gelangen und sich daselbst ansiedeln und entwickeln kann. Die Erörterung dieser Möglichkeit ist vom theoretischen wie vom praktischen Standpunkte gleich wichtig. Erstens fiel dadurch ein Licht auf die zur Zeit noch dunkle Pathogenese so mancher Krankheitsprozesse, welche die inneren Organe angreifen, ohne daß es möglich wäre, die Eingangspforte des Krankheitserregers zu entdecken (wie z. B. gewisse Peritonitis-

formen, Osteomyelitis acuta etc.), sowie jener Krankheitsprozesse, die sich nur zu oft auf verletzten Organen entwickeln, trotzdem der therapeutische Eingriff unter sorgsamer Befolgung aller aseptischen Vorschriften erfolgte. So gehören z. B. bei Wöchnerinnen, die doch mit aller Sorgfalt behandelt wurden, septische Komplikationen gar nicht zu den Seltenheiten. Warum sollte man, falls obige Beobachtungen als richtig erkannt werden sollten, nicht annehmen dürfen, daß in einigen dieser Fälle der Mikroorganismus aus irgend einem entfernten, noch aktiven oder nur anscheinend erloschenen Eiterungsherde oder von einem jener Organe, die mit der Außenwelt in Berührung stehen (die oberen Luftwege, die Tonsillen, der Pharynx) und die ja bekanntlich auch normalerweise zahlreiche pathogene Bakterienarten beherbergen, auf dem Wege der Blutbahn in die sexuellen Organe eingewandert sei?

Vom praktischen Standpunkte aus wäre endlich dadurch bewiesen, daß für den aseptischen Verlauf der Operationswunden der Arzt für die Asepsis nicht allein des Operationsfeldes, sondern womöglich des ganzen Körpers Sorge zu tragen hat, und daß somit eine gewisse Sorgfalt geboten ist, bevor man sich zu operativen Eingriffen in einer aseptischen Körperregion entschließt, wenn im Organismus selbst ein infektiöser Prozeß besteht oder noch vor kurzem bestanden hat.

In solchen Fällen ist es, wie aus zahlreichen übereinstimmenden Versuchen hervorgeht, leicht möglich, daß die pathogenen Mikroorganismen unter noch nicht näher bekannten Umständen in die Blutbahn eindringen und so den unter dem Namen „Bakteriämie“ bekannten Zustand veranlassen. Letzterer unterscheidet sich bekanntlich von der echten Septikämie nicht bloß dadurch, daß die Anzahl der im Blut kreisenden Mikroorganismen eine bedeutend niedrigere ist, sondern auch durch den stets gutartigen Verlauf und die stets fehlende Symptomatologie. Folglich wäre es in den Fällen, wo ein solcher noch so leichter und vorübergehender Zustand von Bakteriämie besteht, leicht verständlich, wie die im Blutstrom kreisenden Mikroorganismen an einer traumatisierten Stelle, als einem locus minoris resistentiae, einen günstigen Nährboden zu ihrer Ansiedelung und Entwicklung finden können. Man erwäge noch, daß im Tierkörper diese Bakteriämie selbst unter durchaus physiologischen Umständen bestehen kann infolge der Einwanderung von Mikroorganismen in die Blutbahn vom Intestinaltraktus aus, wie zuerst Nocard bewies.

Von der Erfahrung ausgehend, daß sich das Blutserum, selbst wenn es unter strenger Befolgung aller aseptischen Vorschriften entnommen wird und die Möglichkeit einer Verunreinigung von außen vollständig ausgeschlossen ist, dennoch oft verändert, und zwar vorzüglich dann, wenn es von Tieren stammt, bei denen die Verdauung noch im Gang war, studierte dieser Forscher den Einfluß der Mahlzeiten auf den Uebertritt der Keime in den Blutkreis, wobei er fand, daß die Zahl der Keime im Blut mit dem eingeführten Nahrungsquantum stieg. Zu ähnlichen Ergebnissen gelangten bald darauf auch Porcher und Desoubry.

Die Durchgängigkeit der Schleimhaut des Intestinaltraktes für Bakterien wurde von M. Neisser und Opitz auf Grund ihrer Untersuchungen geleugnet, von Rzegocinski, Wrzosek, Ficker aber unumstößlich festgestellt, indem es ihnen gelang, die mit der Nahrung den Tieren zugeführten Bakterien bald darauf aus dem Knochenmark, der Milz, dem Blut und anderen Organen zu isolieren. Außerdem kon-

statierten Rzegocinski, Wrzosek und Manfredi das Vorkommen züchtbarer Bakterien im Knochenmark, in der Milz und den Lymphdrüsen durchaus normaler Tiere, die keinerlei Laboratoriumsmanövern unterzogen worden waren.

Dies war der Stand der Frage, die uns hier beschäftigt, als ich mich auf Anregung des Herrn Prof. A. Cesaris-Demel dazu entschloß, zu erforschen, ob das Tierexperiment die aus obigen Erwägungen sich aufdrängenden Folgerungen auch wirklich bestätigte. Und zwar machte ich es mir zunächst zur Aufgabe, zu ermitteln, ob ein an einer entfernten Körperstelle eingeführter Mikroorganismus überhaupt zu einer aseptischen Verletzung auf der Körperoberfläche zu gelangen vermag und sich daselbst nachträglich entwickeln kann.

Als Versuchstiere wählte ich Meerschweinchen, denen mit chemischen und physischen Mitteln, wie Einspritzung reizender Flüssigkeit unter die Haut und Verbrühung einer umschriebenen Hautpartie mit siedendem Wasser, zweckdienende Verletzungen beigebracht wurden.

Von Bakterien kamen zur Verwendung: eine *Sarcina*-Art, *Prodigiosus*, *Pneumobacillus* Friedländer, *Pyocyaneus*, *Cholera-vibrio*, *Icteroides* und *Diphtheriebacillus*. Die Bakterien wurden sowohl im frisch angefertigten Präparate als auch durch Züchtung auf verschiedenen Nährmedien gesucht. Kulturen wurden außer von dem Gewebe der Injektionsstelle und der künstlichen Verletzung auch aus dem Herzblut und dem Knochenmark angelegt.

1. Versuch. 10. März 1905. Man injiziert dem Tiere 1 ccm einer *Sarcina*-Bouillonkultur unter die Rückenhaut und gleichzeitig 2 ccm einer konzentrierten sterilisierten Kochsalzlösung unter die Haut der Sakralgegend. Am 14. März 1905 wird das Tier getötet. Befund: Schwellung und Oedem der Haut, am Rücken eine kleine Kruste. Das Gewebe der Injektionsstelle und der künstlichen Verletzung, sowie das Blut und das Knochenmark werden in frischem Zustande auf Bakterien durchsucht, jedoch ohne Erfolg, ebenso bleiben die davon angelegten Kulturen steril.

2. Versuch. 11. März 1905. Obiger Versuch wird wiederholt. Am 15. März 1905 wird das Tier getötet. Ergebnis negativ.

3. Versuch. 12. März 1905. Man injiziert dem Tiere 1 ccm einer Bouillonkultur von *Prodigiosus* unter die Rückenhaut und 1 ccm einer konzentrierten und sterilisierten Kochsalzlösung unter die Haut des rechten Schenkels. Am linken Schenkel wird eine umschriebene Hautzone mit heißem Wasser verbrüht. Das Tier wird am 15. März 1905 getötet. Ergebnis nur für den Rücken positiv.

4. Versuch. Nachdem die Schenkel wie im vorigen Versuche verletzt worden sind, bekommt das Tier 0.5 ccm einer Bouillonkultur von *Pneumobacillus* Friedländer unter die Rückenhaut. 16. März 1905. Das Tier wird getötet. Am Rücken ein kleiner Abscessus, an den Schenkeln nekrotische Zonen. Die Untersuchung am frischen Präparate fällt für den Rücken und den rechten Schenkel positiv aus. Das Kulturergebnis ist für den Rücken und den rechten Schenkel ebenfalls positiv, für den linken Schenkel, das Blut und das Knochenmark negativ.

5. Versuch. 16. März 1905. Man verfährt wie im vorigen Versuch. 18. März 1905. Das Tier wird getötet. Das Ergebnis ist bloß für den Rücken positiv. Aus dem Knochenmark wird ein *Staphylococcus* isoliert.

6. Versuch. 18. März 1905. Als Mikroorganismus kommt *Pyocyaneus* zur Verwendung. Die beiden Schenkel werden wie in obigen Versuchen verletzt. Am 20. März 1905 wird das Tier getötet. Am Rücken und unter der Haut des linken Schenkels hat sich bläulicher Eiter angesammelt. Die Untersuchungen am frischen Präparate geben für den Rücken und den linken Schenkel ein positives Resultat; desgleichen die Kulturen.

7. Versuch. 21. März 1905. Man wiederholt den vorstehenden Versuch. Am 23. März 1905 tötet man das Tier. Untersuchung am frischen Präparate und Kulturergebnis positiv für den linken Schenkel und am Rücken. Aus dem Knochenmark wird ein *Staphylococcus* isoliert.

8. Versuch. 23. März. 1905. Man verfährt wie bei Versuch 6 und 7. Das Tier wird am 25. März 1905 getötet, es befindet sich in sehr schlechtem Zustande. Die Resultate sind positiv, sowohl für den Rücken und die Schenkel als für das Blut und das Knochenmark.

9. Versuch. 28. März 1905. Zur Verwendung kommt *Cholera vibrio*. Am 31. März 1905 wird das Tier getötet. Resultat negativ.

10. Versuch. 29. März 1905. Das Tier bekommt 0,5 cem einer Bouillonkultur von *Icteroides* unter die Rücken- und an den Schenkeln die üblichen Verletzungen. 2. April 1905. Am frischen Präparate ist das Resultat nur für den Rücken positiv. Die Kulturen fallen für den Rücken und beide Schenkel positiv, für Knochenmark und Blut negativ aus.

11. Versuch. 3. April 1905. Man verfährt wie bei vorigem Versuch. Am 5. April 1905 wird das Tier getötet. Untersuchung am frischen Präparate und Kulturergebnisse nur für den Rücken positiv.

12. Versuch. 9. Mai 1905. Das Tier wird wie bei vorigen Versuchen behandelt. Man bringt ihm 2 Oesen einer Bouillonkultur von *Diphtherie bacillus* unter die Rücken- und am 10. Mai 1905 wird es getötet. Untersuchung am frischen Präparate und Kulturergebnisse positiv für den Rücken, negativ für beide Schenkel, das Blut, das Knochenmark. Aus letzterem wird ein *Staphylococcus* isoliert.

13. Versuch. 11. Mai 1905. Man wiederholt den vorstehenden Versuch. Das Tier wird am 15. Mai 1905 mit negativem Resultate getötet.

14. Versuch. 13. Mai 1905. Versuch 12 wird zum dritten Male wiederholt. Am 16. Mai 1905 wird das Tier getötet, ebenfalls mit negativem Resultate.

Abgesehen von Versuch 8, der nicht zu verwerten ist, weil die Züchtung des *Pyocyaneus* aus Blut und Knochenmark auf einen Zustand von Septikämie deutet, wurde also der an einer entfernten Stelle des Körpers eingeführte Mikroorganismus bei 14 Versuchen 4mal unter der verletzten Schenkelhaut angetroffen, und wenn man bedenkt, daß im 10. Versuche der *Bac. icteroides* sich an beiden verletzten Stellen entwickelt hat, so steigen die positiven Resultate auf 5.

Die Art der beigebrachten Verletzung scheint die Lokalisation der Keime nicht wesentlich zu beeinflussen; bei den 5 positiv ausgefallenen Versuchen gelangten die Bakterien 3mal in dem durch Verbrühung nekrotisierten Hautgewebe und 2mal im Stichkanal der Kochsalzinjektion zur Entwicklung. Einen unverkennbaren Einfluß hat hingegen auf das Versuchsergebnis die verwendete Bakterienart; positive Ergebnisse erhielt man mit Friedländer und *Icteroides*, durch ihr großes Angriffsvermögen ausgezeichnete Mikroorganismen, negative mit den Saprophyten, wie *Sarcina* und *Prodigiosus*, und den toxischen, wie *Diphtherie bacillus*, die nur ein geringes Angriffsvermögen oder gar keines besitzen.

Ich will noch bemerken, daß es mir bei meinen Versuchen durch methodische Kultur des Knochenmarks 3mal gelungen ist, einen *Staphylococcus* zu isolieren. Dies bestätigt die früheren Beobachtungen von Manfredi, Rzegocynski und Wrzosek, betreffend die Möglichkeit, daß durchaus gesunde Organe latente Bakterien beherbergen können. Diese Tatsache ist deshalb interessant, weil sie uns zu erklären vermag, auf welchem Wege sich in den Knochen gewisse infektiöse Prozesse entwickeln können, wie es z. B. für *Osteomyelitis acuta* der Fall ist, ohne daß es möglich wäre, die Einbruchspforte der Mikroorganismen in den Organismus zu entdecken.

Eine zweite Versuchsreihe habe ich sodann angestellt, um zu ermitteln, ob unter normalen Verhältnissen Bakterien aus dem Intestinaltraktus bis zu einer aseptischen Verletzung oberflächlicher Organe vorzudringen vermögen.

Als Versuchstiere dienten wieder Meerschweinchen, denen mit dem Futter vermischt Bouillonkulturen von *Prodigiosus*, *Streptococcus* und *Pyocyaneus* verabreicht wurden. Nach einigen Tagen einer solchen Kost wurden dann den Tieren ähnliche Verletzungen beigebracht wie bei der vorstehenden Versuchsreihe. Nach weiteren 3–4 Tagen wurden die Tiere getötet und nach der bei der ersten Versuchsreihe

üblichen Methode (Untersuchung am frischen Präparate, Kulturen aus den verletzten Gewebsteilen, Blut und Knochenmark) auf Bakterien untersucht.

Sämtliche Versuche, 9 an der Zahl, mißglückten. Es war mir kein einziges Mal möglich, die mit dem Futter in den Verdauungskanal der Tiere eingeführten Mikroorganismen weder im verletzten Gewebe noch im Blute oder im Knochenmark anzutreffen. In einem Versuche, wie schon 3mal in der ersten Versuchsreihe, gelang es mir, aus dem Knochenmark einen *Staphylococcus* zu isolieren.

Nicht nur scheint durch diese Versuche die Möglichkeit ausgeschlossen, daß vom Intestinaltraktus Bakterien bis zu einer oberflächlichen aseptischen Verletzung vordringen können, sondern daß dieselben überhaupt sich in den inneren Organen ansiedeln können.

In dieser Hinsicht stehen also die Ergebnisse meiner Versuche in Widerspruch mit denen der oben erwähnten Untersuchungen von Rzegocynski, Wrzosek und Ficker. Doch glaube ich denselben keine absolute Beweiskraft zumessen zu dürfen, erstens weil negative Ergebnisse nie auf dieselbe Geltung Anspruch erheben können wie positive, ferner weil, wie aus den Versuchen von Ficker hervorgeht, Species und Alter des Versuchstieres die Resultate selbst beeinflussen. Während dieser Forscher aus dem Blute und sonstigen Organen der Katzen und Hunde nie den in den Darmkanal eingeführten *Prodigious* isolieren konnte, gelang ihm dies bei Kaninchen mehrmals und bei säugenden Tieren immer.

Wenn es mir bei der geringen Anzahl dieser Versuche dennoch erlaubt ist, einige Schlüsse zu ziehen, so glaube ich deren Ergebnisse folgendermaßen zusammenfassen zu können:

a) Auf eine Körperstelle, die mit einer aseptischen Verletzung behaftet ist, können aus einem fernegelegenen Infektionsherd Bakterien übersiedeln und sich entwickeln.

b) Dasselbe ist unter normalen Bedingungen nicht der Fall für die Bakterien, die sich im Intestinaltraktus befinden.

Vom Standpunkte der Praxis lehren uns diese Versuche, daß auf den aseptischen Verlauf einer chirurgischen Wunde die Einwanderung von Mikroorganismen auf dem Wege der Blutbahn aus einer entfernten Körpergegend, ganz unabhängig von dem operatorischen Eingriff, störend einwirken kann; darum sollte der Arzt, bevor er sich zu einem solchen entschließt, sich erst vergewissern, ob nicht irgendwo im Kranken ein infektiöser Herd existiert, von welchem eine Verschleppung schädlicher Keime auf die Wunde möglich wäre.

#### Literatur.

- Vincent, M. E., *Tétanos et quinine*. (Annal. de l'Inst. Pasteur. T. XII. 1904.)  
 Tarozzi, Sulla latenza delle spore di tetano nell'organismo animale e sulla possibilità che esse risvegliano un processo tetanico sotto l'influenza di cause traumatiche e necrotizzanti. (Atti R. Accad. dei Fisiocritici. Ser. 4. Vol. XVII. 1905.)  
 Nocard, Influence du répas sur la pénétration des microbes dans le sang. (Semaine méd. 1895. No. 8. p. 63.)  
 Neisser, M., Ueber die Durchgängigkeit der Darmwand für Bakterien. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XII.)  
 Opitz, Beiträge zur Frage der Durchgängigkeit von Darm und Nieren für Bakterien. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXIX.)  
 Desoubry et Porcher, De la présence des microbes dans le chyle normal du chien. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1895.)  
 Rzegocynski, Recherches bactériologiques sur la moëlle des os des animaux à l'état normal. (Arch. polon. des sc. biolog. et méd. T. II. 1903.)



Wrzosek, De la pénétration des microorganismes de l'appareil digestive dans les organes internes à l'état normal. (Inst. Path. gén. et expér. Univ. Jagell. Cracovia. 1903.)

— —, Recherches sur les voies de passage des microbes du tube digestif dans les organes internes à l'état normal. (Bull. Acad. d. sc. Cracovie. 1903.)

Ficker, Ueber die Keimdrichtigkeit der normalen Schleimhaut des Intestinaltraktes. (Arch. f. Hyg. Bd. LII. 1905.)

*Nachdruck verboten.*

## Beiträge zur Kenntnis der anaëroben Bakterien des Menschen.

[Aus dem pathologisch-anatomischen Institute in Wien (Vorstand: Prof. Dr. A. Weichselbaum).]

### IV. Zur Aetiologie der akuten Meningitis.

Von Prof. Dr. A. Ghon, Dr. V. Mucha und Dr. B. Müller.

Mit 2 Tafeln und 5 Textfiguren.

(Fortsetzung.)

Auch die Komplikationen der akuten fötiden Mastoiditiden haben immer fötiden und gangränösen Charakter. Man findet demnach in encephalitischen Abscessen, in eiterigen Meningitiden, in den metastatischen Lungenherden, in den eiterigen Arthritiden etc., die im Anschlusse an fötide Mastoiditis entstanden sind, auch die Mikroorganismen der fötiden Otorrhöe. Diese Mikroben sind anaërobe Bakterienarten, ihre Zahl ist eine so große, daß es derzeit noch nicht möglich ist, eine vollständige Uebersicht über alle Arten, die dabei eine Rolle spielen, zu geben.

Einige dieser anaëroben Arten sind nicht pathogen, andere wieder erzeugen beim Tiere gangränöse, oft tödliche Prozesse. Und diese sind als die eigentlichen Erreger der Mastoiditis und ihrer Komplikationen anzusehen. Ihre Rolle besteht nicht bloß darin, dem Eiter den fötiden Geruch zu verleihen. Mehrere unter ihnen sind begabt mit einer außerordentlichen Virulenz und im stande, die Zerstörung des Gewebes und seine gangränöse Einschmelzung zu bewirken, sei es durch ihre direkte Tätigkeit, sei es durch ihre sezernierten Giftstoffe.

Es war E. Rist unmöglich, alle Mikroorganismen, die im Verlaufe der Untersuchungen gefunden worden waren, vollständig zu bearbeiten. Die große Zahl der Formen, sowie die Schwierigkeiten der bei diesen Arbeiten nötigen bakteriologischen Technik zwangen die Untersuchungen nur auf einige Arten zu beschränken und zwar auf jene, die sich besonders häufig vorfinden oder die ihrem biologischen Verhalten nach ein spezielles Interesse verdienten. Unter diesen Formen fanden sich einige, die identifiziert werden konnten mit Arten, schon beschrieben von Veillon und Zuber<sup>1)</sup>, andere wieder, die zum ersten Male isoliert worden waren.

Da die Arbeit von E. Rist wenig bekannt zu sein scheint, für die Frage der otitischen Infektionen aber grundlegend ist, dürfte es gerechtfertigt sein, kurz die wichtigsten Merkmale jener anaëroben Bakterien-

1) Société de biologie. 1894. mars.

formen hier anzuführen, die in der genannten Arbeit eingehender beschrieben sind, um so mehr, als wir die Kenntnis dieser Arten auch für die Identifizierung der von uns isolierten Species benötigen:

1) „Espèce A (Veillon et Zuber)“, isoliert aus dem Eiter eines Hirnabscesses der Beobachtung XV von E. Rist („Otitis moyenne gauche suppurée chronique. — Caries du rocher. Abscès du lobe temporal gauche. Mort“): In Kulturen unregelmäßig gefärbte Fäden, manchmal mit Anschwellungen. In Zuckeragar bei 37° C kleine Kolonien mit welligen Rändern, fein granuliert und grau transparent. In Zuckergelatine bei 23° C kein Wachstum. In Zuckerbouillon wolkige Flocken, die später niedersinken, ohne Gasbildung. Fötider Geruch. Absceßbildung bei Meerschweinchen und Kaninchen nach subkutaner Infektion.

2) „Espèce B (Veillon et Zuber)“, isoliert aus dem gleichen Absceß wie No. 1: Anaërober Kokkenart, grampositiv, kleine granulierten Kolonien in Zuckeragar. Wachstum bei 22° C in Zuckergelatine, ohne zu verflüssigen. In Zuckerbouillon gleichförmige Trübung mit Gasbildung. Pathogen für Meerschweinchen und Kaninchen.

3) „Espèce C (Veillon et Zuber)“, isoliert aus verschiedenen pathologischen Produkten des Falles XIV von E. Rist („Otorrhée chronique. — Septicémie aiguë. — Ostéomyélite purulente fétide multiples. — Pleurésie purulente. — Phlébite iliaque. — Mort“): *Coccobacillus*, etwas länger als der Erreger der Hühnercholera, mit bipolarer Färbung. In den Kulturen Fäden, oft mit Anschwellungen. Unbeweglich. Schwere Färbbarkeit. Kolonien in Zuckeragar klein. In Zuckerbouillon langsames Wachstum. Fötider Geruch der Kulturen. Kein Wachstum bei gewöhnlicher Temperatur. Pathogen für Meerschweinchen und Kaninchen. Wahrscheinlich identisch mit dem *Bacillus funduliformis* (J. Hallé).

4) „*Bacillus serpens* (Veillon et Zuber)“, isoliert aus dem Eiter der Mastoiditis, des Gehirnbrunnens und der Lungenherde der Beobachtung XIII von E. Rist („Otorrhée fétide gauche. — Mastoïdite aiguë. — Trépanation. — Thrombophlébite sinusienne. — Abscès du lobe sphénoïdal gauche. — Foyers circonscrits et disséminés de gangrène pulmonaire. — Mort“): Großes Stäbchen mit abgerundeten Enden, gramnegativ, beweglich. Wachstum zwischen 20° und 37° C. Verflüssigung der Gelatine. In Agar bei 37° C kleine Kolonien, grau und granuliert, auf der Oberfläche wolkig und transparent. In Bouillon rasche Trübung. Gasbildung gering. Fötider Geruch. Pathogenität geringer als beim *B. ramosus*.

5) „*Bacillus ramosus* (Veillon et Zuber)“, zuerst isoliert aus dem Falle XIII von E. Rist (außerdem mehrere Male aus Fällen von Appendicitis): Feines Stäbchen, größer als der *Bacillus* der Mäuseseptikämie, von verschiedener Länge. Gegliederte und ungegliederte Fadenbildung, grampositiv („mais d'une manière inégale“), beweglich. Wachstum nur bei Bruttemperatur. Oberflächenkolonien auf Agar klein, graubraun und zart wolkig. Geringe Gasbildung. Charakteristischer fötider Geruch. Ziemlich große Lebensfähigkeit in Kulturen. Pathogen für Meerschweinchen und Kaninchen. Nach gleichzeitiger Inokulation des *Bac. ramosus* und *serpens* beim Kaninchen Auftreten einer gangränösen Phlegmone mit Abheben der ganzen Bauchhaut bei geringer Gasbildung.

6) „*Bacillus perfringens* (Veillon et Zuber)“, isoliert aus mehreren Fällen von Mastoiditis und fötider Otorrhöe, einmal auch aus gangränöser Pneumonie: Ein *Bacillus*, allem Anschein nach identisch mit dem bekannten Anaëroben von Welch-Fraenkel.

7) „*Staphylococcus parvulus* (Veillon et Zuber)“, Kleiner Coccus, gramnegativ und unbeweglich. Wachstum auch bei 22° C. Keine Verflüssigung der Gelatine. Gasbildung und fötider Geruch. Pathogen für Meerschweinchen und Kaninchen.

8) „*Micrococcus foetidus* (Veillon)“, von Veillon zuerst in 3 Fällen fötider Eiterung gefunden (bei Angina Ludovici, Perinephritis und Bartholinitis), sodann von J. Hallé im Sekrete normaler Vagina und im Eiter von Bartholinitis, häufig in otitischen Eiterungen zu finden, vielleicht identisch mit dem anaëroben *Streptococcus* von Menge und Kröning: Grampositiver, unbeweglicher Kettencoccus, kein Wachstum in Gelatine bei 22° C, reichliches Wachstum in Zuckeragar mit Zusatz von Ascitesflüssigkeit. In Zuckerbouillon Wachstum nach Art der Streptokokken. Geringe Gasbildung. Sehr penetranter unangenehmer Geruch.

9) „*Bacillus radiiformis* (Rist et Guillemot)“, isoliert aus dem Falle XI von E. Rist: Gerader, ziemlich dicker *Bacillus*, gramnegativ, unbeweglich, als *Diplobacillus* oder in gegliederten Fäden, häufig mit bipolarer Färbung. In Zuckergelatine bei 23° C charakteristische Kolonien: Durchscheinend, perlmuttartig, mit 2–3 konzentrischen Schichten und einem bräunlichen Kern, bei schwacher Vergrößerung vom Aussehen eines Siegels oder einer noch beschalteten Kastanie. Gelatineverflüssigung. Geringe Lebensfähigkeit. Pathogen für Meerschweinchen.

10) „*Bacillus thetoides* (Rist et Guillemot)“, isoliert aus dem gleichen Falle wie No. 9: Gramnegativer, unbeweglicher Bacillus von länglich-ovaler Form, ungleichmäßig sich färbend, polymorph. Kein Wachstum in Gelatine bei 23° C. Gut isolierte Kolonien in Zuckeragar 2–3 mm im Durchmesser, bikonvexe Scheiben darstellend mit runden, scharfen Rändern. Gasbildung. Pathogen für Meerschweinchen.

11) „*Spirillum nigrum* (Rist)“, isoliert aus dem gleichen Falle wie No. 9 und No. 10: Stark bewegliches Bakterium „en forme de parenthese ou d'S italique“, gramnegativ. In Zuckeragar Kolonien bis 2–3 mm, schwarz, opak, gut begrenzt, rund oder scheibenförmig. In Zuckergelatine bei 23° C intensiv schwarze Kolonien, ohne Verflüssigung. Geruch nach faulen Eiern. Geringe Gasbildung. Pathogenität fraglich.

Die eben angeführten Arten waren nicht die einzigen, die E. Rist bei seinen Untersuchungen gefunden hatte. Daraus geht zweifelsohne hervor, daß die Zahl der Bakterienarten, die bei entzündlichen Prozessen des Ohres und ihren Komplikationen gefunden werden können, eine große ist, ferner, daß es gerade Anaërobien sind, die bei diesen Prozessen eine Hauptrolle spielen.

Die Frage, auf welche Weise diese Bakterien in das innere Ohr gelangen und woher sie stammen, dürfte unserer Meinung nach nicht immer in gleicher Weise zu beantworten sein. E. Rist sagt in seiner Arbeit darüber folgendes:

„Il nous paraît évident que leur origine doit être recherchée dans la cavité buccale, d'où ils pénètrent par voie salpingienne. La plupart des espèces que nous avons étudiées se retrouvent en effet dans la bouche, d'où elles se répandent dans tout le canal digestif et en particulier dans l'intestin. Les espèces anaérobies que Veillon et Zuber ont rencontré dans les appendices, où celles jouent un rôle considérable, sont pour la plupart identiques à celles qui vivent normalement dans la bouche et que l'on retrouve dans le tartre dentaire, dans les abcès dentaires etc. Il en est de même pour les microbes des otites. Par quel mécanisme, ces organismes qui mènent dans la cavité buccale une vie saprophyte inoffensive, acquièrent-ils soudain une virulence si excessive? C'est là évidemment un problème fort obscur, mais qui ne se pose pas seulement à propos des anaérobies. Beaucoup de microorganismes pathogènes bien connus, le pneumocoque, le streptocoque, le staphylocoque etc., peuvent se rencontrer dans la bouche à l'état de saprophytes, et n'acquièrent leur virulence que sous des influences encore mal connues. Nous rentrons donc ici dans un cas général.“

Diesen Anschauungen von E. Rist möchten wir im allgemeinen beistimmen: Die Mund-Rachenhöhle mit ihrem so veränderlichen Bakterienreichtum spielt als Eingangspforte für einen Teil der Ohrinfektionen sicherlich eine Hauptrolle. Daß außerdem Infektionen noch in anderer Weise erfolgen können und auch erfolgen, ist ohne weiteres zuzugeben.

Den Untersuchungen von E. Rist können gleichwertige eigentlich nicht mehr an die Seite gestellt werden. Wir finden in der uns zugänglichen Literatur wohl noch da und dort einen Hinweis auf die Bedeutung anaërober Bakterien für die chronisch-entzündlichen Ohraffektionen, aber keine genaueren Angaben. So erwähnt Grunert<sup>1)</sup> in seinem Referat die Arbeit von Funke aus dem Jahre 1901, in der hervorgehoben wird, daß bei der chronischen Mittelohreiterung Anaërobien eine wichtige Rolle spielen können. Die Originalarbeit von Funke war für uns unerschaffbar, eingehenderer Angaben scheint sie aber zu enthalten.

In jüngster Zeit endlich hat die Wiener otiatrische Schule durch Politzer<sup>2)</sup> und Neumann<sup>3)</sup> mit Nachdruck auf die Bedeutung an-

1) Grunert, K., Mittelohr, Warzenfortsatz und intrakranielle Komplikationen der Otitis. (Ergebnisse d. allgem. Pathol. u. pathol. Anat. von Lubarsch u. Ostertag. Bd. VIII. 1902.)

2) Politzer, A., Ueber Pathologie, Diagnose und operative Behandlungen der Labyrintheiterungen. (Sitzung d. Gesellsch. d. Aerzte in Wien vom 25. Nov. 1904. — Wien. klin. Wochenschr. 1904.)

3) Neumann, VII. internat. Congr. f. Otologie in Bordeaux 1904 (Arch. internat.

aërober Bakterien für die chronischen Mittelohreiterungen und ihre Komplikationen aufmerksam gemacht. Diesen Mitteilungen liegen die hier mitgeteilten und andere Untersuchungen zu Grunde.

Daß in unseren 4 Fällen die Entzündung der Hirnhäute ihren Ausgangspunkt von der Ohraffektion genommen hat, unterliegt keinem Zweifel. Die klinische Beobachtung und der erhobene pathologisch-anatomische Befund sprechen dafür.

Der bakteriologische und histologische Befund über die Veränderungen des Mittelohres in diesen Fällen wird von Neumann an anderer Stelle veröffentlicht werden.

Es bleibt uns noch übrig, die beschriebenen Bakterienarten zu identifizieren. Vorher erscheint es uns aber zweckmäßig, der Uebersicht wegen nochmals alle jene Eigenschaften der gefundenen Arten hervorzuheben, die nach unserer Meinung für die Bestimmung wesentlich sind. Diesem Zwecke dient die folgende Tabelle.

Wir müssen jedoch hervorheben, daß in dieser Tabelle nur jene Eigenschaften verzeichnet sind, die wir als tatsächlich diesen Arten zukommende ansehen dürfen, daß hingegen alle jene Eigenschaften weggelassen wurden, die als nicht einwandsfrei erwiesene betrachtet werden können. Wir haben dabei vor allem einige ihrer chemischen Leistungen im Auge. Schon in unserer letzten Arbeit in diesem Fachblatte<sup>1)</sup> haben wir erwähnt, daß wir nicht berechtigt sind, die Mengenverhältnisse gewisser nachgewiesener Produkte auch als tatsächlich vorhandene anzusehen, da manche dieser Produkte auch in nicht beimpften Nährmedien in wechselnden Mengen nachzuweisen sind.

Wie nämlich aus unseren Untersuchungen zu ersehen ist, unternahmen wir es, die isolierten anaëroben Bakterienformen auch darauf zu untersuchen, ob sie im stande seien, gewisse chemische Leistungen zu vollbringen. Es handelte sich dabei um den Nachweis von Schwefelwasserstoff, Indol, Alkohol, Aceton, Essigsäure, Milchsäure und Buttersäure. Dieser Nachweis sollte ein ausschließlich qualitativer sein und die eventuell gebildete Menge nur schätzungsweise nach dem Ausfalle der Reaktion beurteilt werden. Diese Untersuchungen wurden an Kulturen in Zuckerfleischbrühe (Traubenzucker) und Milch ausgeführt, und zwar soweit als möglich an Kulturen verschiedenen Alters.

Kontrolluntersuchungen haben uns nun gelehrt, daß auch in nicht beimpften Kölbchen der zwei genannten Nährmedien (Zuckerfleischbrühe und Milch) manche der oben bezeichneten Produkte in wechselnden Mengen nachgewiesen werden können.

So fanden wir in einer sterilen Traubenzuckerfleischbrühe, die unter den gleichen Bedingungen wie die geimpften Kulturen durch 8 Tage im Brutofen gestanden war, bei neutraler Reaktion des Nährbodens eine minimale Spur von Schwefelwasserstoff, ziemliche Mengen von Aethylalkohol und Buttersäure und mäßige Mengen von Milchsäure.

Einen fast ähnlichen Befund ergab die Untersuchung einer sterilen Bouillonkultur ohne Zuckerzusatz, die 14 Tage lang bei 37° C gestanden hatte: Es fand sich Schwefel-

de Laryngologie, d'Otologie et de Rhinologie. T. XVIII. No. 5) u. Sitzung d. Gesellsch. f. inn. Med. u. Kinderheilk. in Wien. Sitzung vom 16. Febr. 1905. (Mittel. d. Gesellsch. f. inn. Med. u. Kinderheilk. in Wien. Bd. IV. 1905. No. 4.)

1) Ghon, A. und Mucha, V., Beiträge zur Kenntnis der anaëroben Bakterien des Menschen. III. Zur Aetiologie der Peritonitis. II. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX. 1905.)

wasserstoff in spärlicher Menge, ebenso Aethylalkohol, Buttersäure ziemlich reichlich, Milchsäure reichlich.

Auch in einer Milch, die mehrere Monate lang als Kontrolle bei 37° C gestanden hatte, ließen sich ziemlich viel Aethylalkohol, mäßig viel Buttersäure und Spuren von Milchsäure nachweisen.

In dem Bestreben, die Herkunft der gebildeten Produkte nachzuweisen, untersuchten wir sterile Fleischbrühe ohne jeden Zusatz und je eine Lösung des bei der Bereitung unserer Nährböden verwendeten Traubenzuckers und Peptons.

Wir fanden in der sterilen Fleischbrühe, die leicht sauer reagierte, eine minimale Spur von Schwefelwasserstoff, eine Spur Buttersäure, spärlich Aethylalkohol und reichlich Milchsäure. In der Traubenzuckerlösung (30 g:500 H<sub>2</sub>O), die neutral reagierte, ließ sich nur eine Spur Buttersäure nachweisen und in der Peptonlösung (Pepton Witte 12 g:500 H<sub>2</sub>O) spärlich Indol und Buttersäure und eine Spur Milchsäure.

Wenn wir nun diese Befunde bei den von uns beschriebenen Bakterienformen berücksichtigen, ist vor allem hervorzuheben, daß es durch unsere Untersuchungen nicht bewiesen erscheint, ob unsere Bakterien Alkohol, Milchsäure und Buttersäure erzeugen. Die nachgewiesenen Mengen lassen keinen sicheren Entscheid zu. Eine quantitative Untersuchung hätte vielleicht zum Ziele geführt. Für die Differentialdiagnose kämen wahrscheinlich diese Produkte ohnedies kaum in Betracht.

Der Befund von Schwefelwasserstoff ist bei den in den Fällen II und III beschriebenen Bakterien eindeutig positiv und dürfte unserer Meinung nach auch nicht für die in den Fällen I und IV beschriebenen Formen anzuzweifeln sein; denn auch in diesen Fällen waren die nachgewiesenen Mengen gleichmäßig derartige, daß sie die auch in nicht beschickten Nährmedien konstatierbaren immer übertrafen.

Anders steht es mit dem Nachweis von Indol in den Fällen I und IV. Die Menge des gefundenen Indols war eine sehr geringe, die Reaktion außerdem nur ausnahmsweise positiv ausgefallen, trotzdem viele Male gerade darauf untersucht worden war<sup>1)</sup>. Die Annahme, daß der Peptongehalt des Nährbodens dafür verantwortlich gemacht werden kann, ist nicht von der Hand zu weisen. Hingegen waren bei dem im Falle II beschriebenen Bakterium geringe Mengen von Indol häufig zu finden und auch dann, wenn bei den übrigen Bakterien die Reaktion eine negative war, so daß wir nicht anstehen, diesem Bacillus die Fähigkeit zuzuerkennen, geringe Mengen von Indol zu bilden.

Der mehrfach erhobene positive Befund von Essigsäure bei dem Bakterium im Falle III wird wohl kaum zu Zweifeln Anlaß geben. Und da wir bei unseren Kontrolluntersuchungen niemals im stande waren, Essigsäure nachzuweisen, dürfte es gerechtfertigt sein, auch den einmaligen Befund von Essigsäure in geringen Mengen bei dem Bacillus im Falle II anzuerkennen.

---

1) Die für die Lösung dieser Fragen ausgeführten Untersuchungen waren weit zahlreicher, als in den einzelnen Fällen erwähnt ist.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Studien über die Morphologie des *Vibrio cholerae asiaticae*.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Graz.]

Von Privatdozent Dr. **Hans Hammerl**.

Mit 1 Tafel und 1 Figur

Bei der Züchtung einer größeren Zahl von Cholerakulturen in verschiedenen Nährlösungen habe ich bei einigen Stämmen unter denselben Bedingungen stets das Auftreten von Formen beobachten können, die mit der normalen Schraubengestalt des *Cholera vibrio* keine Ähnlichkeit besitzen, und im mikroskopischen Bilde an alles eher erinnern, als an den Erreger der Cholera asiatica. Es handelt sich um die Bildung von kleinen runden Scheibchen, in der Größe von 1—3  $\mu$ , welche bei der Untersuchung im hängenden Tropfen lebhaft beweglich im Gesichtsfelde herumschwimmen, oder um das Vorkommen von größeren und kleineren Bläschen und Kugeln, welche zuerst homogen, dann gekörnt erscheinen und eine Größe bis zu 6  $\mu$  und darüber erreichen können. Nicht selten sieht man auch unregelmäßige, vielgestaltige Formen, Spindeln, die sich verzweigende Fortsätze besitzen, breite Spirillen mit flachen Windungen u. dergl. Diese Formen sind in den Kulturen bereits zu sehen, sobald man mit freiem Auge überhaupt ein Wachstum konstatieren kann, meist schon nach 24 Stunden, mitunter erst nach 2—3 Tagen. Sieht man diese Formen zum erstenmal, so ist man, namentlich ohne Kenntnis der Sachlage, geneigt, dieselben für Degenerations- oder Involutionsformen zu erklären. Dagegen spricht aber schon der Umstand, daß diese Gebilde auftreten, sobald überhaupt Vermehrung bemerkbar ist, ferner die Tatsache, daß namentlich im Anfange häufig nur solche Formen zu sehen sind, und daß solche Kulturen über Wochen und Monate überimpfbar sich erweisen. Ueberdies müßte man es als wenig dem Sprachgebrauche entsprechend erklären, die in einer Kultur zuerst auftretenden Formen als degeneriert oder involviert zu bezeichnen.

Ueber abnormales Aussehen des Choleraerregers auch in jungen Kulturen finden sich in der Literatur bereits mehrfache Angaben. In ausführlicher Weise berichtet Gamaleia in seinem Lehrbuche „Elemente der Bakteriologie“ über die bei Choleraabakterien unter bestimmten Umständen auftretenden Formen und erwähnt dabei auch die von anderen Autoren erhaltenen ähnlichen Befunde. Bei der Züchtung des *Cholera vibrio* in mit Lithionsalzen versetzten Nährböden hat G. die Entwicklung dreier verschiedener Formen gesehen, deren Aussehen und Verhalten er eingehend beschreibt. Es handelt sich einmal um Riesenzellen, welche durch ihre Größe, durch ihre eigentümliche, spärliche Krümmung und durch eine ungleichmäßige Dicke sich auszeichnen, ferner um kugelige oder amöbenartige Formen, die besonders auf Li-haltiger Gelatine wachsen, und drittens um sogenannte Mikromiten, mit welchem Namen Gamaleia dünnste, unter dem Mikroskope kaum noch bemerkbare Fäden bezeichnet. Diese konnten entweder allein oder in Begleitung der Riesenformen in den Kulturen beobachtet werden. Manchmal hat Gamaleia den Eindruck erhalten, als wenn sich die Riesenformen durch Längsspaltung in Mikromiten teilten. Von diesem Autor wird

das Auftreten dieser Formen als *Heteromorphismus* bezeichnet und die Ursache desselben in der Bildung von phosphorsaurem Li innerhalb der Bakterienzelle gesehen. Ob die Beobachtungen mit einem Stamme allein oder mit mehreren gemacht worden sind, geht aus der Publikation nicht hervor. Fast gleichzeitig mit dieser Publikation erschien eine Arbeit von Matzuschita, in welcher derselbe über das morphologische Verhalten des *Cholera vibrio* auf Agar mit hohem Kochsalzgehalte Mitteilung machte. Diese ist sehr kurz gehalten und bringen nur die Tatsache, daß auf solchen Nährböden neben fadenförmigen Gebilden auch Kugeln auftreten können.

In ausgedehnter Weise hat dann Maassen das Verhalten des Choleraerregers in Parallele mit vielen anderen Bakterien auf Nährböden mit verschiedenem Salzgehalt untersucht. Auch Maassen hat unter bestimmten Bedingungen das Vorkommen mannigfacher Abweichungen von der normalen Gestalt beobachten können und zwar gleich Gamaleia am ausgedehntesten in Li-haltigen Nährböden. Er beschreibt die Formen, welche sich entwickelten, als Riesenzellen, als Kugeln, ferner als Hefe- oder amöbenähnliche Gebilde. Als Nährsubstanz verwendete Maassen 1,75 Proz. Agar-Agar, welcher einen bestimmten Zusatz von Soda erhalten hatte, und dem nachträglich die verschiedenen Salze zugesetzt wurden. Auch Maassen gibt nicht an, ob er seine Beobachtungen an einer oder an mehreren Kulturen gemacht hat.

Ueber Stäbchen und Kugelbildungen in Nährbouillon mit 2 Proz. NaCl beim *Vibrio cholerae asiaticae* berichtet auch Almquist. Er spricht die Kugeln als eine Art Konidien an und behauptet, die Auskeimung derselben in Stäbchen und Spirillen beobachtet zu haben. Almquist hat seine Untersuchungen an mehreren Cholerastämmen angestellt und bei allen das gleiche Verhalten konstatieren können. Es ergab sich nur insofern ein Unterschied, als manche Stämme früher, manche erst später Konidiengbildung zeigten.

Mit Rücksicht auf diese bereits vorliegenden Mitteilungen könnte es vielleicht überflüssig erscheinen, über das Vorkommen dieser auffallenden Gestaltsveränderung des Choleraerregers noch weiter zu berichten. Der Schwerpunkt der folgenden Untersuchungen war aber nicht so sehr darauf gerichtet, festzustellen, daß solche Gebilde auftreten können, sondern vielmehr zu konstatieren, ob unter denselben Bedingungen bei Kulturen verschiedener Herkunft stets die Entwicklung der beschriebenen Kugeln und Amöbenform zustande kommt, ob also dem Wachstum in Nährböden von bestimmter Zusammensetzung eine gewisse Gesetzmäßigkeit zu Grunde liegt. Weiterhin sollte dann versucht werden, auf Grund der Ergebnisse die Entstehung dieser auffälligen Gebilde zu erklären und wenn möglich das Zustandekommen derselben auf einfache physikalische oder physiologische Gesetze zurückzuführen.

Die erste Beobachtung über das Auftreten abnormaler Formen des *Vibrio cholerae asiaticae* machte ich beim Wachstum eines Stammes, welcher die Institutsetiquette 27c trägt; in einer  $\frac{1}{4}$ -proz. Pepton-Kochsalzlösung sah ich zuerst bei der Untersuchung im hängenden Tropfen 24—48 Stunden nach der Impfung runde Scheibchen in der Größe von 1—3  $\mu$ , gequollene Commaformen, die wie Gipfel aussahen, dreieckige Gebilde, ferner geweihartige Formen u. dergl. auftreten. Da alle diese Gebilde lebhaft beweglich waren, so konnte es sich nicht um absterbende, sondern eher um auf der Höhe der Entwicklung stehende Formen handeln. Die Nährflüssigkeit war nur schwach getrübt, die Entwicke-

lung relativ gering, und auch in den nächsten Wochen nicht besonders üppig; überimpfbar und lebensfähig erwiesen sich jedoch die Kulturen noch nach vielen Wochen. Zur Zeit dieser ersten Beobachtungen (vor ungefähr  $2\frac{1}{2}$  Jahren) standen mir außer dieser Kultur nur noch 3 andere Cholerastämme zur Verfügung: 27, 27a und 27b. Es war naturgemäß, das Verhalten auch dieser Kulturen in derselben Peptonlösung zu prüfen. Dieselben zeigten jedoch keine wesentlichen Abweichungen von der normalen Komma- oder Schraubenform, wenigstens nicht bei dem Wachstum in der verdünnten Peptonlösung. Hingegen ließ der Stamm 27 in Lösungen mit hohem Kochsalzgehalt große, kugelförmige Bläschen entstehen, welche namentlich in den ersten Tagen des Wachstums bei der Untersuchung im hängenden Tropfen das mikroskopische Bild völlig beherrschten. Diese Beobachtung veranlaßte mich, das Verhalten einer größeren Zahl von Cholerakulturen im Sinne der oben gestellten Aufgabe auf ihr Verhalten in verschiedenen Nährlösungen zu prüfen. Durch die Liebenswürdigkeit der Herren Proff. Dunbar, Kolle und Sobornheim bin ich in den Besitz einer größeren Zahl von Kulturen gelangt, und ist es mir eine angenehme Pflicht, den genannten Herren auch an dieser Stelle für ihr freundliches Entgegenkommen bestens zu danken. Vor Abschluß der Arbeiten habe ich dann noch durch die gütige Vermittelung des Herrn Prof. Prausnitz mehrere Kulturen von der letzten Choleraepidemie in Ostpreußen aus den hygienischen Instituten in Danzig und Posen erhalten; den Herren Proff. Wernicke und Petruschky sei gleichfalls für ihre Freundlichkeit an dieser Stelle bestens gedankt.

Bevor ich zur Wiedergabe der Versuchsergebnisse übergehe, will ich im folgenden kurz die verwendeten Kulturen beschreiben, mich dabei aber auf die Angabe der Gestalt und Beweglichkeit, des Aussehens der Kolonien auf der 10-proz. Nährgelatine und auf den Ausfall der Cholerarotreaktion als Maßstab der Indolbildung und Reduktionsfähigkeit beschränken. Die Rotreaktion wurde mit annähernd gleichaltrigen, ca. 3 Wochen alten, in 1-proz. Pepton-Kochsalzlösung gewachsenen Kulturen angestellt.

Was zunächst die 4 Laboratoriumskulturen anbelangt, so soll die Kultur 27 aus Wien stammen, 27a aus Breslau, während die Herkunft von 27b unbekannt ist. Alle drei sind durch viele Jahre im Institute fortgezüchtet worden. Die Uebersendung des Stammes 27c aus dem Ehrlichen Institute in Frankfurt verdanke ich der gütigen Vermittelung des Herrn Dozenten P. Th. Müller.

27. Plumpe Kommaformen, außerdem längere, ziemlich breite Spirillen; Neigung zur Bildung von geblähten und runden Formen; Kolonien wenig gekörnt, namentlich im Anfange kreisrund, geringes Verflüssigungsvermögen, Cholerarotreaktion schwach.

27a. Annähernd normale Komma- und Sigmaformen, Neigung zur Bildung längerer Verbände; gutes Peptonisierungsvermögen, hellgraue Kolonien mit aufgelockertem Rande, R. R. deutlich.

27b. Die Mehrzahl der Spirillen besitzt flache Windungen. Die Gelatine wird nach 24 Stunden bereits ziemlich intensiv verflüssigt. Die Kolonien granuliert, von graubraunem Aussehen. R. R. schwach.

27c. Lebhaft bewegliche Sigmaformen, dünne Spirillen mit wenig Windungen; auf der Gelatine verlangsamtes Wachstum, typisches Aussehen der Kolonien; R. R. deutlich.

Aus dem Institut für Infektionskrankheiten in Berlin stammen die Kulturen 7, 10, 11, 17, 24, 36, 47, 50, 57, 63, 83; es sind dies die Stämme, welche unter derselben Nummer in der Zeitschrift für Hygiene, Bd. XLIV, nach ihrer Herkunft, Form, Beweglichkeit, Wachstum



in Gelatine, Anzahl der Geißeln, R. R. Dosis letalis für Meerschweinchen, Verhalten im Pfeifferschen Versuch, Taubenpathogenität beschrieben sind. Nur der Vollständigkeit halber habe ich im folgenden das morphologische und biologische Verhalten derselben, wie es kurz vor Abschluß der Versuche festgestellt wurde, zusammengestellt.

7. Typische Kommata, geringe Neigung zur Entwicklung geblähter Formen, typische Kolonien auf der Gelatine; R. R. deutlich.

10. Gestalt ähnlich 7, kleine Spirillen von wenig Windungen. Peptonisierungsvermögen mäßig, glattrandige Kolonien von graubraunem Aussehen, R. R. deutlich.

11. Mehr breite Formen, Neigung zu längeren Verbänden; glattrandig, wenig gekörnt und wenig verflüssigende Kolonien. R. R. sehr deutlich.

17. Ziemlich lange und gut bewegliche Komma- und Sigmaformen, die Kolonien zeigen geringes Peptonisierungsvermögen; im Anfange erscheinen sie kreisrund, glattrandig, später etwas gekörnt. R. R. sehr deutlich.

24. Kurze, plumpe, gut bewegliche Formen, Neigung zur Entwicklung rundlicher Gebilde; schwache Verflüssigung der Gelatine, die Kolonien anfangs hellgrau, glatt, später mit unregelmäßigem Rande. R. R. schwach.

36. Breite, kurze Kommaformen, keine längeren Fäden sichtbar; geringes Verflüssigungsvermögen, Kolonien wenig charakteristisch, konzentrische Ringe bildend. R. R. deutlich.

47. Wenig gekrümmte Kommata und Sigmaformen; längere Spirillen zeigen zugespitzte Enden; typisches Aussehen der Kolonien, R. R. deutlich.

50. Kurze, wenig gekrümmte Kommaformen, außerdem längere Spirillen mit flachen Windungen; Kolonien von hellgrauem, stark gekörntem Aussehen, R. R. sehr deutlich.

57. Schlanke, stark gekrümmte Formen, Neigung zur Bildung längerer Verbände, stark granuliert, grauweiße Kolonien mit gut entwickeltem Verflüssigungstrichter. R. R. deutlich.

63. Komma- und Sigmaformen, verhältnismäßig wenig gekrümmt, rundliche und ungleichmäßige Formen in nicht unbeträchtlicher Zahl, typisches Verhalten der Kolonien hinsichtlich Aussehen und Verflüssigung. R. R. deutlich.

83. Schmale, lebhaft bewegliche Komma- und Sigmaformen, die Kolonien sind hellbraun und zeigen starke Lappung und mäßige Verflüssigung. R. R. schwach.

Aus dem hygienischen Institute in Hamburg wurde mir die Kultur 321, 322 und Bombay zugesandt. Die ersten beiden Kulturen stammen aus der Hamburger Epidemie 1892/93. Von diesen ist mir leider 321 im Laufe der Untersuchungen eingegangen.

322. Die übergroße Mehrzahl sind längere Spirillen mit mit flachen Windungen, geringes Verflüssigungsvermögen, hellbraune, wenig gekörnte Kolonien R. R. schwach.

Bombay. Kurze, plumpe, wenig gebogene Formen. Neigung zur Entwicklung rundlicher Gebilde. Auf der Gelatine ist das Wachstum außerordentlich verzögert. Erst nach 3—4 Tagen zeigt sich deutliches Wachstum in Gestalt von wenig verflüssigenden hellbraunen Kolonien. R. R. sehr schwach.

Dem hygienischen Institut in Halle a. S. entstammen die Kulturen „Duisburg“, „El Tor“, „Klein“, Freiburg“, „Berlin“. Von diesen ist mir Freiburg eingegangen, die übrigen zeigen folgendes Verhalten:

Duisburg. Ziemlich stark gekrümmte Formen, Neigung zur Bildung längerer Verbände, geringes Verflüssigungsvermögen, Kolonien wenig typisch, R. R. schwach.

El Tor. Schmale, längliche, wenig gewellte Formen, typisches Aussehen der Kolonien. R. R. deutlich.

Klein. Wenig gekrümmte Kommata, die Kolonien erscheinen hellgrau und zeigen unregelmäßige, maulbeerartige Lappung. R. R. deutlich.

Berlin. Stark gekrümmte Form. häufig zu Klumpen vereinigt, typisches Aussehen der Kolonien. R. R. deutlich.

Die Kulturen „Einlage“ und „Neufahrwasser“ wurden während der letzten Epidemie in Ostpreußen isoliert und sind mir vom hygienischen Institut in Danzig zugesandt worden.

Einlage. Typische sehr lebhaft bewegliche Kommata; die Kolonien zeigen geringes Verflüssigungsvermögen; sie sind namentlich im Anfange graubraun, glattrandig, erst später weisen sie Körnung auf. R. R. deutlich.

Neufahrwasser. Kurze, plumpe Form, typische Beweglichkeit, starkes Verflüssigungsvermögen, Kolonien mehr glattrandig, mäßig gekörnt. R. R. deutlich.

Aus dem hygienischen Institut in Posen erhielt ich die Kulturen „Stäben“ (bei der letzten Epidemie isoliert), ferner „Jaffa“, „Aegypten 73“, „Aegypten 74“ und „Calc“.

Stäben. Mehr plumpe, wenig gekrümmte Kommata und Sigmaformen, stark verflüssigende Kolonien von graubraunen stark gekörntem Aussehen. R. R. deutlich.

Jaffa. Kurze, wenig gebogene, aber gut bewegliche Formen, sehr typisch aussehende Kolonien. R. R. schwach.

Aegypten 73. Kurze, mäßig gekrümmte, gut bewegliche Kommata, außerdem zahlreiche elliptische und rundliche Formen, Kolonien von typischem Verflüssigungsvermögen, stark gekörnt. R. R. sehr deutlich.

Aegypten 74. Typische Kommata und Sigmaformen, Neigung zu längeren Verbänden; stark gekörnte, die Gelatine gut verflüssigende Kolonien. R. R. schwach.

Calc. Typisch gekrümmte und gut bewegliche Vibrien, normales Verflüssigungsvermögen, braun gekörnte Kolonien. R. R. deutlich.

Mit Ausnahme der Kulturen aus Danzig und Posen wurden mit allen anderen ausgedehnte Versuchsreihen unternommen, um festzustellen, von welchen Bedingungen das Entstehen der so auffälligen Formen abhängig ist. Theoretisch könnte dabei in Betracht kommen: Art und Menge des Stickstoffträgers, des Neutralsalzes, weiterhin äußere Umstände wie Temperatur, Sauerstoffzutritt, Belichtung u. dergl. Eine Anzahl von orientierenden Vorversuchen, über die nicht weiter berichtet werden soll, ergaben sehr bald die Tatsache, daß die Bildung der abnormen Wuchsformen in flüssigen Nährböden und zwar bei Bruttemperatur am schönsten vor sich geht, und daß für die Entstehung derselben der Salzgehalt eine große Rolle spielt. Im Vergleich zu diesem Momente kamen Zusätze verschiedener Substanzen, das Halten bei höherer oder niedriger Temperatur, der Zutritt von Sauerstoff viel weniger in Betracht. Nur ein Zusatz hat sich für die Entwicklung des Bakterienwachstums, namentlich in Lösungen mit geringem Gehalte an Nährstoffen sehr bewährt, nämlich der von Agar-Agar. Ich löste 15 g Agar in 100 ccm Wasser, erhitze aber nur so lange, als es für die Lösung unbedingt nötig war, und setzte nach kräftigem Durchschütteln von der trüben, nicht filtrierten Flüssigkeit 0,2–0,25 ccm zu 5 ccm der Nährlösung. Dieselbe wurde dann noch durch 10 Minuten im Dampfkochtopfe sterilisiert, wobei es sich behufs gleichmäßiger Auflösung und Verteilung des Agars als günstig erwies, 5 Minuten nach Beginn der Sterilisation die Gläschen mit dem Nährboden kräftig zu schütteln. In manchen Nährlösungen, namentlich in solchen mit geringem Pepton- und Salzgehalt, entwickelt sich ohne diesen Zusatz häufig überhaupt kein Wachstum, oder dasselbe ist so kümmerlich, daß erst bei wiederholten Untersuchungen im hängenden Tropfen einzelne Mikroben gefunden werden können. In dem mit Agar versetzten Nährboden bildet sich regelmäßig schon in den ersten Tagen eine rege Vermehrung der Bakterien, welche sich als graue Scheibe dokumentiert, die bald mehr gegen die Oberfläche, bald mehr der Mitte zu gelegen ist.

Die Mehrzahl der Versuche stellte ich mit Pepton-Kochsalzlösungen an, wobei sowohl die Konzentration des Peptons als auch des NaCl in verschiedenster Weise variiert wurde. Zur Herstellung der Lösungen hielt ich mir eine 10-proz. Peptonlösung vorrätig. Ich löste 10 g Pepton (Witte) in 90 g Aqua dest. und zwar durch Erhitzen im Dampfkochtopfe durch etwa 1–1½ Stunden. Es scheiden sich dann braune Flocken aus, nach deren Filtrieren man eine gelbbraune, klare, vollkommen durchsichtige Flüssigkeit erhält. Erwärmt man nur so lange,

daß das Pepton eben gelöst ist, also nicht bis zur Ausscheidung von braunen Flocken, so zeigt die Lösung, namentlich in etwas dickerer Schicht, eine leichte Opaleszenz. Für meine Zwecke, für das Auftreten der abnormen Wuchsformen zeigte sich die Verwendung der stark erhitzten Lösung als zweckdienlicher, und wurde daher diese für die Herstellung der Nährlösungen hauptsächlich verwendet.

In den folgenden Zusammenstellungen sind die Kulturen, welche in einer bestimmten Konzentration an Stelle der typischen Spirillengestalt mit einer gewissen Gesetzmäßigkeit runde oder vielgestaltige Formen entstehen ließen, fett gedruckt. Es bedeutet dies, daß die abnorme Wuchsform schon in den ersten Tagen nach der Impfung, und zwar in übergroßer Mehrzahl in den betreffenden Nährböden sich entwickelt, nicht bloß in einzelnen Exemplaren. Um Zufälligkeiten bei der Beobachtung auszuschließen, wurden viele Versuchsreihen unter genau denselben Bedingungen nach verschiedenen langen Zeiträumen — im ganzen erstrecken sich die Beobachtungen auf zirka 2½ Jahre — wiederholt und nur bei jenen Kulturen, bei welchen sich konstant annähernd dieselben Befunde zeigten, das Ergebnis als positiv im obigen Sinne bezeichnet. Von der typischen Komma- oder Spirillengestalt abweichende Formen kann man bei genauem Zusehen fast in jeder Cholerakultur beobachten, sei dieselbe jung oder alt, namentlich wenn man auf das Vorkommen derselben einmal aufmerksam geworden ist. Bei der Untersuchung im hängenden Tropfen sieht man fast stets einzelne Formen, die sich mehr oder weniger der Kugelgestalt nähern, und es sind diese Wuchsformen sicher schon von allen Autoren, die sich eingehender mit der Morphologie des *Vibrio cholerae asiaticae* befaßt haben, gesehen worden. Wahrscheinlich hat nur die allgemein verbreitete Ansicht, daß der Choleravibrio sehr zur Bildung von Degenerationsformen neigt, und daß diese runden und geblähten Formen daher nichts anderes darstellen, als im Absterben begriffene Mikroorganismen, verhindert, diesen abnormalen Gestalten größere Aufmerksamkeit zuzuwenden.

Da es unverhältnismäßig viel Zeit und Arbeit gekostet hätte, das Verhalten aller Kulturen, die mir zur Verfügung standen, in jeder der verwendeten Nährlösung und zwar wiederholt zu prüfen, so begnügte ich mich meist damit, die Art des Wachstums bei einigen der Stämme zu konstatieren, zumal es sich bald herausstellte, daß nur wenige der Kulturen über die Eigentümlichkeit verfügen, in weitgehender Weise von der normalen Spirillengestalt unter den gewählten Bedingungen abzuweichen. Kontrollversuche, welche von Zeit zu Zeit derart vorgenommen wurden, daß eine große Anzahl der Stämme in Nährlösungen übertragen wurden, deren Einfluß auf das Wachstum bereits festgestellt worden war, hatten das Ergebnis, daß, von Ausnahmen, welche gesondert besprochen werden sollen, abgesehen, tatsächlich die Mehrzahl der untersuchten Kulturen in den verschiedenen Nährböden sich annähernd gleich verhielt.

(Forts. folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## *Bacillus paratyphosus* B e cane.

[Aus der chemischen Abteilung des kaiserl. Instituts für experimentelle Medizin und dem klinischen Laboratorium des Kijeffschen Lazarets vom roten Kreuze in der Stadt Tschita.]

Von Dr. W. N. Klimenko, St. Petersburg.

Bei Gelegenheit einer anderen Arbeit isolierte ich im bakteriologischen Institut der Berner Universität aus Leber und Mesenterium eines 4 Monate alten Hundes einen *Bacillus*, den ich, einigen kulturellen Eigentümlichkeiten nach, der Gruppe des *Bacillus enteritidis* Gärtner = *B. paratyphosus* B zuzählen mußte. Angesichts dessen, daß die Lehre vom Paratyphus in den letzten Jahren eifrigst bearbeitet worden war [Schottmüller (1), Hoffmann (2), Korte (3), Segin (4), Luksch (5), Pratt (6), Beliajeff (7), Levi-Serugue (8), Conradi, Drigalski und Jürgens (9), Kurth (10), Fischer (11), Brion und Kayser (12), Trautmann (13), Paladino-Blandini (14) und viele andere], verdiente die Tatsache des Auffindens eines Repräsentanten dieser Gruppe bei einem vollkommen gesunden Hund eine nähere Untersuchung meines Fundes.

Ich begann meine Untersuchung im chemischen Laboratorium des Instituts für experimentelle Medizin, setzte sie in der Stadt Tschita, in dem von mir eingerichteten klinischen Laboratorium des Kijeffschen Lazarets vom roten Kreuze fort und beendigte sie im chemischen Laboratorium des genannten Instituts.

Schon beim Beginne meiner Arbeit stellte es sich heraus, daß in der Literatur verschiedene Widersprüche in der Charakteristik des *B. enteritidis* Gärtner existieren. So sagt Matzuschita (15) in seiner Diagnostik, daß der *B. enteritidis* G. die Milch koaguliert; Günther (16) bemerkt: „Die chemische Reaktion der Milch wird durch diesen *Bacillus* nicht verändert und die Milch nicht koaguliert“. Kitt (17) schreibt, daß der *B. enteritidis* die Milch koaguliert. Kruse (18) sagt, indem er den genannten *Bacillus* charakterisiert, daß, nach Lubarsch, der *B. enteritidis* die Milch einige Tage nach ihrer Infektion durch denselben zum Gerinnen bringt. Macé (19) behauptet auch, daß der *B. enteritidis* die Milch schnell koaguliert. Nach Gärtner (20) jedoch koaguliert sein *Bacillus* die Milch nicht. Van Ermengem (21) endlich bestätigt die Angabe Gärtners, indem er eine genauere Beschreibung der Veränderungen gibt, die durch den *B. enteritidis* in der Milch hervorgerufen werden.

Aus den angegebenen Gründen blieb mir nur übrig, mir eine Kultur des *B. enteritidis* Gärtner und des *B. paratyphosus* B Schottmüller zu verschaffen und an denselben, parallel mit den von mir isolierten Stäbchen, Kulturversuche anzustellen. Die genannten Kulturen verschrieb ich von Král aus Prag. Nachdem ich mich von ihrer Reinheit überzeugt hatte, schritt ich zum vergleichenden Studium sowohl dieser als auch des von mir isolierten *Bacillus*. Der Uebersichtlichkeit wegen stelle ich die erhaltenen Daten in einer Tabelle zusammen (s. Tabelle I).

Aus der angeführten Tabelle ergibt sich, daß es, ungeachtet der Anwendung der allerverschiedensten Nährböden und Färbungen, nicht gelang, einen Unterschied zwischen den genannten Bakterien festzustellen,

Tabelle I.

Name des Bacillus	Bacillus paratyphosus B.	Bacillus enteritidis Gärtner	Bacillus, welcher von mir aus dem Hunde kultiviert war
Das Aussehen u. die Größe des Mikroorganismus	Kurze, zuweilen kokkenähnliche Stäbchen; oft zu zweien zusammen. Länge 0,5—1,2 $\mu$ , Breite 0,2—0,5 $\mu$		
Das Verhalten zu den gewöhnlichen Anilinfarben	Färben sich zuweilen ungleichmäßig, wie die Bakterien der hämorrhagischen Septikämie der Tiere		
Verhalten zur Gramschen Methode	Färben sich nicht nach Gram		
Sporen	Sporenlos		
Kolonieen auf der Gelatine	Die oberflächlichen Kolonieen sind ähnlich denjenigen von <i>B. coli</i> comm., aber das Vorkommen von Rinnen ist eine Ausnahme; sie sind polymorph, die Ränder sind weniger ausgezackt als bei den Kolonieen des <i>B. coli</i> comm.; die tiefliegenden Kolonieen wie bei <i>B. coli</i> comm.		
Kolonieen auf dem Agar-agar	Die Oberflächen- und die Tiefenkolonieen sind sehr ähnlich denjenigen von <i>B. coli</i> comm.; sie sind gröber granuliert als die letzteren		
Fleischbrühe mit 1 Proz. Peptonum siccum Witte	Die Fleischbrühe wird rasch trübe; auf der Oberfläche bildet sich oft eine leicht zerreißende Haut. In allen Kulturen schleimiger Niederschlag auf dem Boden		
Peptonwasser, 1 Proz.	Das Wachstum ähnlich, nur schwächer als auf der Fleischbrühe		
Gelatinestich	Wächst wie <i>B. coli</i> comm.		
Schräggelatine	Wächst wie <i>B. coli</i> comm.		
Agar-Agarstich	Wächst wie <i>B. coli</i> comm.		
Schrägagar	Wächst wie <i>B. coli</i> comm.		
Kartoffel	Wachstum zuweilen stark, zuweilen schwach; der dicke Belag ist schmutzig-braun oder gelblich		
Milch	Keine Milchgerinnung. Nach ungefähr 10 Tagen wird sie durchsichtiger und nach 30—40 Tagen (T. + 37° C) ganz durchscheinend. Die Farbe der Milch verändert sich: sie wird gelber, sogar gelbbraun. Die Reaktion der Milch wird immer alkalischer. Auf dem Boden des Reagenzglases sammelt sich ein geringer Niederschlag		
Verhalten zur Temperatur	Optimum + 37° C, wächst aber auch bei Zimmertemperatur		
Verhalten zum Sauerstoff	Fakultativ anaërob		
Indolbildung	Keine Indolbildung. Die Untersuchung wurde gemacht am 1., 2., 3., 4., 5., 6., 7., 8., 14. und 28. Tage		
SH <sub>2</sub>	SH <sub>2</sub> wird gebildet		
Nährmedien mit Methylenblau	Methylenblau wird reduziert		
Lackmusmolke von Petruschky	Die ersten 2 Tage Säurebildung, vom 4. Tage an Alkalibildung		
Nährboden von Omeliansky (26) (Peptonbouill. mit 0,5-proz. ameisen-sauren Natron; Gärkölbchen von Einhorn)	Energische Zersetzung des ameisen-sauren Natrons, Gasentwicklung schon am 1. Tage.		
Schrägagar mit 0,5-proz. ameisen-sauren Natron mit Phenolphthalein. Omeliansky (26)	Nach 48 Stunden nimmt der Agar eine leichte Rosafärbung an; das Kondenswasser ist trübe. Nach 96 Stunden wird der Agar stark rosa; das Kondenswasser nimmt auch Rosafarbe an		

Name des Bacillus	Bacillus paratyphosus B.	Bacillus enteritidis Gärtner	Bacillus, welcher von mir aus dem Hunde kultiviert war
Agar-Agar mit 4 Proz. Glycerin	Zersetzung des Glycerins mit Gasentwicklung		
Agar-Agar mit 1 Proz. Mannit	Zersetzung des Mannits mit Gasentwicklung		
Agar-Agar mit 1 Proz. Lävulose	Zersetzung der Lävulose mit Gasentwicklung		
Agar-Agar mit 1 Proz. Maltose	Zersetzung der Maltose mit Gasentwicklung		
Agar-Agar mit 1 Proz. Traubenzucker	Zersetzung des Traubenzuckers mit Gasentwicklung		
Agar-Agar mit 1 Proz. Milchzucker	Milchzucker wird nicht zersetzt		
Nährboden von Barsikow (1 Proz. Nutrose, 0,3 Proz. Traubenzucker und Lackmus,	Am Ende des 1. Tages nimmt der Nährboden Rosafarbe an; starke Gerinnung		
Nährboden von Barsikow (1 Proz. Nutrose, 0,3 Proz. Milchzucker u. Lackmus	Gutes Wachstum; nach 7 Tagen keine Gerinnung, keine Opaleszenz; die Reaktion ist alkalisch		
Nährboden von Barsikow (1 Proz. Nutrose, 0,3 Proz. Mannit und Lackmus	Am Ende des 1. Tages nimmt der Nährboden Rosafarbe an; starke Gerinnung		
Neutralrotagar von Rot- berger	Nach 18—24 Stunden Entfärbung des Nährbodens; grüne Fluoreszenz; Gasentwicklung		

und der von mir isolierte *Bacillus* erwies sich somit als identisch mit *B. paratyphosus* B und dem *B. enteritidis* Gärtner.

Die Tierexperimente, welche übrigens ausschließlich mit dem von mir gezüchteten Mikroorganismus angestellt wurden, bestätigen im allgemeinen die gewonnene Schlußfolgerung.

Dazu gelangte ich, indem ich die mir aus der Literatur zugänglichen Tatsachen mit den Ergebnissen meiner Tierexperimente zusammenstellte. Für meine Tierexperimente benutzte ich weiße Mäuse (8), weiße Ratten (2), Meerschweinchen (17), Kaninchen (5), Hunde (6), Katzen (5) und Tauben (15).

Da die Kulturen lange Zeit auf künstlichen Nährböden gezüchtet wurden, so lag es auf der Hand, eine Verringerung der Virulenz des von mir gewonnenen Mikroorganismus anzunehmen. Deshalb ließ ich ihn Tierkörper (Meerschweinchen) passieren, um seine Virulenz zu verstärken. Nach der 4. Passage töteten 0,5 ccm einer in das Bauchfell injizierten 36-stündigen Bouillonkultur ein 330—340 g wiegendes Meerschweinchen in 18—20 Stunden.

Die Verstärkung der Virulenz des in Frage stehenden *Bacillus* brauchte ich für Infektionsversuche per os und für Injektionsexperimente durch Hitze sterilisierter Kulturen. Experimente der ersten Art an 2 jungen Hunden mißlangen. Eine tägliche Fütterung derselben im Laufe einer Woche mit 40 ccm einer 24-stündigen Bouillonkultur mit Fleisch und Brot vermischt, rief bei ihnen gar keine krankhaften Erscheinungen hervor. Aus den Faeces des einen gelang es mir, den verfütterten

Mikroorganismus zu isolieren. Ebenso wenig gelang es, Meerschweinchen auf diese Weise zu infizieren. Dafür kamen alle 6 weißen Mäuse, die ich 2 Tage nach der Reihe mit in Bouillon- und Milchkultur geweichtem Brote gefüttert hatte, im Laufe von 5 Tagen nach Beginn des Experimentes um.

Als sie noch lebten, beobachtete man bei allen Durchfall. Die Sektion ergab überall dasselbe Bild: Hyperämie der Darmwand, stellenweise unbedeutende Hämorrhagie in dieselbe, der Darminhalt war flüssig und von bräunlicher Farbe, die Milz stark geschwollen und von weicher Konsistenz, die Leber parenchymatös verändert, die Nieren im Zustande parenchymatöser Entzündung. Aus dem Herzblut gelang es, 4 mal eine Reinkultur des verfütterten Bacillus zu isolieren, und 2 mal wurde derselbe mit dem *B. coli comm.* zusammen gefunden.

Somit erwies sich der von mir gefundene Bacillus als pathogen bei weißen Mäusen (subkutane Injektion), weißen Ratten (subkutane Injektion), Katzen (dasselbe Verfahren), Meerschweinchen (Injektion unter die Haut und in das Cavum peritonei), Kaninchen (subkutane, intraperitoneale und intravenöse Infektion), Tauben (intramuskuläre und intraperitoneale Infektion), und nur zum Teil tödlich bei jungen Hunden (von 4 Hunden starben 2); ausgewachsene Hunde verhielten sich refraktär (2 Hunde).

Allen Tieren injizierte ich immer lebende, 36-stündige Bouillonkulturen, selten 24-stündige Kulturen. Die Dosis schwankte zwischen 0,2 ccm und 4,5 ccm, je nach der Gattung der Tiere und der mutmaßlichen Virulenz der Kultur (je nachdem und wie oft dieselbe den Tierkörper passiert hatte).

Den ausgewachsenen Hunden waren 30 ccm einer 4-tägigen Bouillonkultur, einem in die Vene, dem anderen in die Bauchhöhle, injiziert worden.

Die Lebensfähigkeit der Tiere nach Injektion des untersuchten Mikroorganismus schwankte zwischen 8 Stunden und 29 Tagen. Am schnellsten starben die Tiere bei Injektionen in die Bauchhöhle und in das Blutgefäßsystem, gewöhnlich nach 18–20 Stunden, zuweilen früher; übrigens gab es auch Ausnahmen; so starb z. B. eine Taube 28 Tage nach einer intraperitonealen Injektion.

Bei allen, für die Infektion durch den untersuchten Bacillus empfänglichen Tieren wiederholten sich während der Lebensdauer vom Moment der Injektion an dieselben Erscheinungen: erhöhte Temperatur, Appetitlosigkeit, Durst und Durchfall, bei den Tauben konstatierte man noch Ausfluß aus den Nasenlöchern und Husten.

(Schluß folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Zur Aetiologie der Geflügeldiphtherie.

[Aus dem Hygienischen Institut zu Kiel (Prof. B. Fischer).]

Von Dr. **Reiner Müller**, 1. Assistent.

(Schluß.)

Verhalten zum Sauerstoff: Ich kenne keinen Mikroorganismus, der hierin mit dem Hühnerdiphtheriebacillus übereinstimmt. Nach Chudjakow gedeihen selbst die ausgesprochensten Anaerobier noch bei einer gewissen Sauerstoffverdünnung; d. h. die sogenannten Anaerobier sind an eine bestimmte (geringe) Sauerstoffkonzentration gebunden, oberhalb welcher sie nicht gedeihen, was durch die obere Wachstumsgrenze der Anaerobier in hoher Schicht markiert wird. Die beschriebene Schichtenbildung beim Wachstum des Hühnerdiphtheriebacillus zeigt uns, daß er in verschiedenen, durch scharf markierte Intervalle getrennten Sauerstoffkonzentrationen wächst. Die einzelnen Schichten in diesen festen Nährböden entsprechen einigermaßen den Beijerinckschen „Bakterienniveaus“ in flüssigen Nährböden. Die Sauerstoffkonzentration der Luft ist für das Wachstum nicht geeignet. Es wäre sogar denkbar, daß auch sie nur einem solchen Intervall entspräche, und daß bei noch höherem O-Gehalt der Luft wieder Wachstum aufträte. Auf diesen Gedanken brachte mich das gute Wachstum auf Blutagarplatten; das Hämoglobin könnte recht wohl in ähnlicher Weise wirken, wie im Tierkörper, wo es den Luftsauerstoff in sich aufstapelt und weiter an die Körperzellen abgibt. Diese Rolle eines Sauerstoffüberträgers wäre dann auch bei den anderen eiweißhaltigen Nährbodenzusätzen anzunehmen. Zunächst erscheint es ja allerdings näherliegend, eine reduzierende Wirkung anzunehmen, welche den Bacillen die Sauerstoffkonzentration herabsetze und so die Bedingungen der nächst niedrigeren zusagenden O-Konzentration biete; jedoch sah ich in Traubenzuckeragar keine wesentlich andere Schichtenanordnung als in den Agarröhrchen ohne diese reduzierende Substanz. Nach seinem Verhalten in Agarschüttelröhrchen läßt sich der Hühnerdiphtheriebacillus nicht als aerob, fakultativ aerob oder fakultativ anaerob bezeichnen, da an der Oberfläche kein Wachstum erfolgt. Das Wachstum auf Blutagar gestattet aber andererseits nicht die Bezeichnung „anaerob“. Er paßt also in das übliche Schema schlecht hinein. Man könnte sagen, daß auf den gewöhnlichen Nährböden ein mehr anaerobes Wachstum, auf solchen mit bestimmten Eiweißkörpern aber ein fakultativ aerobes stattfindet. In Wasserstoffatmosphäre zeigten auch Agar und Traubenzuckeragarplatten Wachstum.

Uebrigens habe ich mit Hilfe des Blutagars aus dem Kehlkopfexsudate eines Huhnes (s. oben) einen zweiten, aus dem Rachenschleime eines weiteren Huhnes einen dritten Bacillus isoliert, die beide ein ganz ähnliches Verhalten zum Sauerstoff darbieten, ohne unter sich oder mit dem Hühnerdiphtheriebacillus identisch zu sein. — Es eröffnet sich so ein Ausblick auf eine neue Gruppe von Mikroorganismen, die sich durch ihr eigenartiges Verhalten zum Sauerstoff charakterisiert.

### Symbiose und Antagonismus.

Die hier zu besprechenden Erscheinungen sind wohl hauptsächlich eine Folge des eigenartigen Verhaltens des Hühnerdiphtheriebacillus zum Sauerstoff. In Petri-Schalen mit Agar- oder Traubenzuckeragar-Schüttelkulturen wächst das Stäbchen, wie gesagt, nicht; auch bei schwacher Ver-



größerung sind keine Kolonien sichtbar. Als aber auf solchen Platten nachträglich oberflächlich Luftkeime gewachsen waren, sah ich in der Umgebung einiger dieser Luftkeime ein gutes Wachstum der Hühnerdiphtheriebacillen an der Oberfläche wie in der Tiefe des Nährbodens. Ein solcher Kolonienkranz war in etwa 2–4 mm Entfernung vom Rande der zentralen Kolonie scharf gegen den wachstumsfreien Nährboden abgegrenzt. Nun impfte ich eine derartige Traubenzuckeragar-Schälchenkultur des Hühnerdiphtheriebacillus strichweise mit 16 verschiedenen Bakterienarten; von diesen riefen 4 ein Wachstum in der Umgebung hervor. Dieselben 16 Bakterienarten impfte ich nun auf eine Serumagarsaat meines Stäbchens, und nun sah ich, daß 3 andere Bakterienarten in ihrer Umgebung das auf diesem Nährboden ja spontan erfolgende Wachstum verhindert hatten und zwar bis zu einer Entfernung von 10 mm. Unter diesen 16 ohne besondere Auswahl herausgegriffenen Bakterienarten fanden sich also solche, die auf Agar dem Hühnerdiphtheriebacillus das Wachstum ermöglichten, andere, die es auf Serumagar verhinderten und endlich solche, die weder das eine noch das andere taten. Dieses biologische Verhalten könnte ebenso zur Differentialdiagnose verschiedener Bakteriensorten dienen, wie man dazu die Säurebildung, Alkalibildung oder das Fehlen beider herangezogen hat. Daß die Symbiose nicht durch eine Aenderung der Reaktion bedingt wird, das zeigt wohl schon ein Versuch, wobei Tröpfchen verdünnter Schwefelsäure und Kalilauge auf derartigen Platten in ihrer Umgebung kein Wachstum hervorriefen.

Bei der Frage nach dem Grunde dieser auffallenden Erscheinung lag es nahe, von der Pasteurschen Hypothese auszugehen, wonach Anaerobier oft in Symbiose mit Aerobiern auch unter aeroben Wachstumsverhältnissen gedeihen, weil die Aerobier den Sauerstoff aufzehren. Eine weitere Beobachtung schien hierfür zu sprechen; ich sah nämlich um eine gelbe Sarcinekolonie auf Traubenzuckeragar eine Wachstumszone von Hühnerdiphtheriekolonien, der nach einer wachstumsfreien Zone ein 2. Wachstumsring folgte; das war ganz analog der Schichtenbildung in Schüttelröhrchen; was lag näher als anzunehmen: die (sehr aerophile) Sarcine verzehrt energisch Sauerstoff; dadurch entsteht in der Umgebung innerhalb des Nährbodens ein nach der Kolonie hin abfallendes Konzentrationsgefälle des Sauerstoffs, und innerhalb dieses Gefälles finden sich zwei dem Hühnerdiphtheriebacillus zusagende Konzentrationsbreiten mit einem nicht zusagenden Konzentrationsintervall. Der oben geäußerten Vermutung gemäß konnte man aber auch eine Sauerstoffproduktion in der Sarcinekolonie annehmen, so daß eine zentrifugal abfallende höhere O-Konzentration geschaffen würde. Das wäre vergleichbar mit den Beobachtungen Engelmanns, der bewegliche Bakterien sich ringförmig um eine Sauerstoff-spendende grüne Alge anordnen sah.

Nun hat aber Kedrowski die Theorie aufgestellt, das Gedeihen der Anaerobier an der Luft werde ermöglicht durch eine von den anwesenden Aerobiern abgesonderte Substanz, welche keimdichte Filter nicht passiere. Letztere Eigenschaft scheint im vorliegenden Falle von vornherein als recht unwahrscheinlich; denn warum sollte eine derartige Substanz nicht durch die relativ großen Poren einer Filterkerze hindurchgehen, wo sie doch augenscheinlich mehrere Millimeter weit in den Nähragar hineindiffundiert.

I. Versuchsreihe: Ich filtrierte 4-tägige (37°) Bouillonkulturen der genannten Sarcine durch Reichel-Kerzen und machte folgendes:

1) 15 ccm Agarschüttelkultur des Hühnerdiphtheriebacillus mit 2 ccm Filtrat versetzt, durch öfteres totales Umkehren des Röhrchens gut gemischt, in Petri-Schalen

gegossen: Gutes Wachstum der Hühnerdiphtheriekolonien mit Ausnahme der Umgebung eines Luftkeimes (Antagonismus).

2) Eine Traubenzuckeragar-Schüttelkultur des Hühnerdiphtheriebacillus wird derart in eine Petri-Schale gegossen, daß ein kleiner Teil des Glasbodens nicht davon bedeckt wird. In diese Delle werden ein Paar Tropfen des Filtrates hineingebracht: Hühnerdiphtheriebacillen keimen etwa 3—4 mm um diese Delle auch in der Tiefe des Nährbodens aus. Sonst in der ganzen Platte kein Wachstum.

3) Eine Traubenzuckeragar-Schüttelkultur des Hühnerdiphtheriebacillus (ca. 15 ccm) wird mit 2 ccm Filtrat versetzt, welches vorher 1 Stunde lang auf 60° erhitzt worden war: In der Petri-Schale gutes Wachstum.

II. Versuchsreihe: Schüttelkulturplatten mit in gleicher Weise hergestelltem Filtrat:

1)	15	ccm Trz.-Agar,	0	ccm Filtrat,	2,0	ccm Nährbouillon)	} kein Wachstum
2)	15	"	"	0,2	"	1,8	
3)	15	"	"	0,5	"	1,5	} Wachstum immer üppiger, proportional der Menge des Filtrates
4)	15	"	"	1,0	"	1,0	
5)	15	"	"	2,0	"	0	
6)	15	"	"	4,0	"	0	
7)	15	"	"	2,0	"	1 Stunde auf 60° erhitzten Filtrates,	Wachstum wie 5.

Aus diesen Versuchen ergibt sich, daß die Sarcine eine Substanz abscheidet, welche im Gegensatz zu der Kedrowski'schen Hypothese keimdichte Filter passiert und welche bei 60° nicht zerstört wird, und daß diese Substanz dem Hühnerdiphtheriebacillus das aërobe Wachstum in ähnlicher Weise ermöglicht, wie dies ein Blut-, Serum-, Milch- etc. Zusatz tut. Dieses Ergebnis schließt natürlich nicht aus, daß außerdem noch eine direkte Sauerstoffabsorption oder -produktion dabei beteiligt ist. Die oben beschriebene Erscheinung des Zonenwachstums um die Sarcinekolonie ließe sich aber auch allein durch die Absonderung eines solchen Stoffes erklären: das nach außenhin abfallende Konzentrationsgefälle der abgesonderten Substanz würde auch solche Wachstumszonen erzeugen können, da ja die Substanz möglicherweise nur eine Vermittlerrolle zwischen dem Sauerstoff und den Hühnerdiphtheriebacillen spielt; die Stärke dieser Vermittlung wäre proportional der Konzentration der vermittelnden Substanz; dadurch wären die Bedingungen für ein Zonenwachstum gegeben.

Eingehenderes würde hier zu weit führen. Genauere Untersuchungen auch über den Antagonismus behalte ich mir vor. Natürlich kann man bei den zunächst noch so isoliert dastehenden Eigenschaften des Hühnerdiphtheriebacillus nicht ohne weiteres Schlüsse auf die Symbiose anderer Mikroorganismen machen. Das geschilderte Verhalten des Hühnerdiphtheriebacillus dürfte auch bei seinem Wuchern auf den tierischen Schleimhäuten eine wesentliche Rolle spielen.

### Pathogene Wirkungen.

Künstliche Erzeugung des natürlichen Krankheitsbildes. Aus der Literatur ersehe ich, daß die Hühnerdiphtherie fast nur in naßkalten Herbst- und Wintertagen die Tiere befällt. Es genügt eben wie bei fast allen Infektionskrankheiten nicht die bloße Anwesenheit des Erregers, um das Krankheitsbild zu erzeugen, es bedarf dazu noch einleitender Schädlichkeiten, um dem Bacillus Angriffspunkte zu bieten. Regen, Schnee, Zugluft, unhygienische Stallungen etc. dürften dabei besonders in Betracht kommen. Meine Impftiere derartigen Verhältnissen auszusetzen, war mir aus äußeren Gründen nicht möglich, sie wurden in geschlossenen, meist gar geheizten Räumen gehalten. Trotzdem ist es mir gelungen, mit Reinkulturen meines Stäbchens das typische Krankheitsbild zu erzeugen:

Am 9. Dez. 1905 wird ein Taubenpaar auf dem Markte gekauft. Beide bleiben stets in demselben Käfig. Aussaaten der normalen Rachenschleimhaut zeigen auf Blutagar keine dem Hühnerdiphtheriebacillus ähnliche Kolonien. Am 11. Dez. erhalten beide 1 Oese eintägiger Blutagarkultur des Hühnerdiphtheriebacillus auf die Schleimhaut des Maules aufgetragen. Keine Erkrankung. Am 29. Jan. 1906 erhält das Weibchen einen Tropfen eintägiger Blutagarkultur mit einer Spritze unter die Schleimhaut neben der Zunge; ferner einige Tropfen auf die Schleimhaut geträufelt. Nach 6 Tagen findet sich an der Einspritzungsstelle nur noch eine geringe Schwellung. Hier keine Beläge. Dagegen finden sich am Gaumen und hinter dem Maulwinkel typische gelbliche insuläre Beläge, die fest aufsitzen, beim Abreißen mit der Pinzette eine erodierte Stelle zurücklassen. Der Schnabel wird leicht geöffnet gehalten; das Befinden scheint wenig beeinträchtigt. Am 7. Tage ist der Zustand sichtlich verschlimmert; das Tier sträubt die Federn, aus dem linken Nasenloch und aus dem linken Auge fließt wässriges Sekret. Das Tier sitzt still da und frisst fast nicht. Am 8. Tage ist das Krankheitsbild das gleiche. Am Abend wird das Tier etwas munterer. Am 9. Tage hat der Nasen- und Augenfluß aufgehört; im Maule nur noch 2 kleine Beläge. Das Tier sträubt nicht mehr die Federn und frisst wieder besser. Am 10. Tage sind auch die letzten Beläge geschwunden. Dauerndes Wohlbefinden.

25 Tage nachher waren die Bacillen nicht mehr im Maule nachzuweisen. 40 Tage nach dieser Infektion wurden derselben Taube einige Tropfen Blutagarabschwemmung, ohne zu verletzen, ins Maul geträufelt. 6 Tage nachher hält das Tier den Schnabel wieder leicht geöffnet; am Gaumen, links neben der Mittellinie findet sich wieder ein festsitzender gelber Belag von etwa 2 mm Durchmesser, dessen Aussaat wieder zahlreiche Hühnerdiphtheriekolonien zeigt; in den nächsten Tagen bilden sich noch zwei, kaum 1 mm große gelbe Stippchen am Gaumen. Am 10. Tage sind sie nicht mehr zu sehen.

Das ganze Krankheitsbild stimmte durchaus mit dem natürlichen überein, und besonders die Beläge im Maule kann ich mir nicht typischer denken. Aussaaten von diesen und von dem Konjunktivalsekret auf Blutagar ergab dasselbe Kulturbild wie von natürlich kranken Tieren; besonders die Aussaat des Konjunktivalsekrets war beherrscht von den typischen Kolonien. Zur ersten Infektion hatte ich einen Stamm benutzt, der seit über zwei Monaten 19mal immer wieder von Einzelkolonien von Blutagarplatten auf Blutagarplatten übertragen worden war; zur zweiten einen einige Tage vorher frisch isolierten, 3mal von Einzelkolonien übertragenen Stamm. Ich halte dieses Resultat für einwandfrei. Eine natürliche Infektion erscheint mir ausgeschlossen. Das Tier erkrankte sowohl bei der ersten wie der zweiten Infektion etwa 6 Tage nach der Impfung. Bei der ersten Erkrankung war es schon 2 Monate im Institut, wo bis dahin kein Geflügel gehalten wurde; auch natürlich erkrankte Tiere fanden sich bis dahin nicht im Institute. Auch war mir eine Infektionsmöglichkeit bei der Pflege des Tieres bei der angewandten Vorsicht nicht ersichtlich; ferner hatte die bakteriologische Untersuchung der Kopfschleimhäute vor der Infektion nichts Verdächtiges ergeben. 3 andere Tauben und 3 Hühner, die ich in gleicher Weise zu infizieren suchte, erkrankten bis jetzt nicht; es war allerdings nur ein junges Tier (Huhn) dabei. Trotzdem halte ich die Resultate bei diesem einen Tier für zu eindeutig, um deshalb die Veröffentlichung verzögern zu sollen. Ob der ziemlich leichte und kurze Verlauf bei der erkrankten Taube auf eine geringere Empfänglichkeit der Tauben überhaupt zurückzuführen ist, das müßten umfangreichere Versuche entscheiden; jedoch ist sie nach den Angaben der Literatur wahrscheinlich.

Agglutination: Mit jungen Blutagarkulturen des Erregers lassen sich makroskopisch homogene Aufschwemmungen in physiologischer Kochsalzlösung herstellen; jedoch zeigen diese innerhalb 1—2 Stunden Spontanagglutination und Sedimentierung. Eine derartige Aufschwemmung mit dem Blutserum eines längere Zeit erkrankten Huhnes in den Verhältnissen von 1:30, 1:50, 1:100 versetzt, verhielt sich nicht anders als

die Kontrollen. Das Fehlen spezifischer Agglutination würde bei dem lokalisierten Sitze der Erkrankung nicht auffallend sein. Zu prüfen wäre das Blutserum vielleicht noch auf eventuelle spezifische Antihämolysine.

**Toxinbildung:** Eine Toxinbildung analog der des Diphtheriebacillus scheint nicht stattzufinden. Bei Meerschweinchen sah ich nie Giftwirkungen, selbst nicht, als ich 8 ccm 4-tägiger Bouillonkultur in die Peritonealhöhle brachte. Für das Fehlen einer solchen Toxinwirkung spricht auch das natürliche Krankheitsbild, welches nach Angabe der Autoren durchweg ohne Fieber verläuft. Die Stoffe, mit welchen der Hühnerdiphtheriebacillus den Tierkörper angreift, dürften sich wohl am ehesten mit den in den Nährböden so intensiv wirkenden Enzymen in eine Reihe stellen lassen.

**Einspritzungen in die Blutbahn:** Ein Kaninchen erhielt in die Ohrvene 2 ccm Abschwemmung einer 2-tägigen Blutagarkultur. Tod nach 12 Tagen. Starke Gewichtsabnahme. In der Haut, in der Magen- und Darmwandung mehrere blutige Infarkte. Beide Nieren mit vielen stecknadelkopfgroßen und einigen erbsengroßen Abscessen. In beiden Hüftgelenken schleimig-fadenziehender, nicht riechender Eiter. In den Cubitalgelenken ebenfalls schleimiger Eiter. Die anderen untersuchten Gelenke normal. Links neben der Wirbelsäule auf der Innenseite der 2 letzten Rippen ein 1,5 ccm breiter Absceß. Leber ohne Abscesse. Lunge marmoriert. In allen Eiterproben nur grampositive Stäbchen. Aussaaten wurden gemacht von Hüftgelenkseiter, Blasenarn, Nierenabsceß und Herzblut; alle zeigen Reinkultur von Hühnerdiphtheriebacillen, aus Herzblut wuchsen nur einige wenige Kolonien. — Ein Huhn und eine Taube erhielten 1 ccm derselben Aufschwemmung in die Flügelvene. Keine Krankheitserscheinungen. 2 Meerschweinchen erhielten durch Herzstich (nach Morgenroth) 1 ccm einer solchen Abschwemmung. Sie gingen nach 10 resp. 12 Tagen ein: Nierenabscesse, Pneumonie; bei dem einen Tiere 8 erbsengroße Leberabscesse, bei dem anderen 2 erbsengroße in der Gegend der Sternocostalgelenke; die anderen Gelenke wurden damals nicht untersucht. Präparate und Blutagarkulturen auch von den pneumonischen Lungen ergaben Reinkultur des Hühnerdiphtheriebacillus.

**Intraperitoneal** erhielt ein Meerschweinchen etwa ein Viertel der Abschwemmung einer 2-tägigen Blutplatte. Es ging nach 15 Tagen ein an eitriger Peritonitis. 3 andere so geimpfte Tiere blieben am Leben.

**Subkutane Einverleibung** war bei Meerschweinchen in allen Fällen von Absceßbildung gefolgt. Keines der Tiere ging daran ein. Der rahmige Eiter enthielt die Stäbchen in Reinkultur. Bei weißen Mäusen verursachte subkutane Einspritzung eine trockene Nekrose der Haut an dieser Stelle.

### Ausblicke für die Therapie und Prophylaxe.

Therapeutische Versuche habe ich nicht angestellt, da ich nicht eine größere Zahl kranker Tiere unter natürlichen Bedingungen zur Verfügung hatte. Zunächst kämen in Betracht gute Stallung und Pflege, dann lokale Applikation keimtötender Mittel. Eine Antitoxintherapie wie bei der menschlichen Diphtherie kommt wohl nicht in Frage, da es sich anscheinend nicht um eine Allgemeinintoxikation handelt. Immerhin wäre zu versuchen, ob sich durch subkutane Einspritzung der Krankheitserreger oder daraus gewonnener Stoffe vielleicht

Antienzyme, Antihämolyse oder ähnliche Stoffe erzeugen ließen, die die diphtherischen Prozesse günstig beeinflussen könnten. Interessant wäre es auch, zu sehen, ob sich dies mit Hilfe der oben berührten Antagonismusercheinungen erreichen ließe.

Prophylaktisch kommen besonders in Betracht Desinfektion und Isolierung. Der Hühnerdiphtheriebacillus stellt durchaus keinen sehr labialen Infektionsstoff dar. Ich sagte schon oben, daß die Stäbchen auf der Oberfläche verschiedener Nährböden ausgestrichen, über einen Monat bei Zimmertemperatur ohne jegliches Wachstum am Leben bleiben. Im Schmutz und Kot dürfte der Bacillus sich bei genügender Feuchtigkeit lange halten. Genauere Versuche habe ich nicht angestellt. Die Widerstandsfähigkeit gegen Desinfizienten dürfte eine ähnliche sein wie beim Diphtheriebacillus; wie schon mitgeteilt, wurde der Bacillus durch 58° innerhalb einer halben Stunde abgetötet.

Das 6. von mir untersuchte Huhn war beim Auftreten der ersten Krankheitserscheinungen vom Besitzer isoliert worden; es blieb unter etwa 30 Tieren das einzige erkrankte. Es ist bekannt, daß die Erkrankung vielfach durch Geflügelausstellungen verbreitet wird; schwerlich wird aber ein sichtlich diphtheriekrankes Huhn ausgestellt werden; daher liegt es nahe anzunehmen, daß hier die Verbreitung der Seuche durch genesene oder überhaupt nicht erkrankte „Bacillenträger“ erfolgt, wie dies auch bei der menschlichen Diphtherie geschieht. Unter sachverständiger Leitung ließe sich wohl die Gefahr der Uebertragung bei solchen Gelegenheiten vermindern. Meine Versuche haben gezeigt, daß sich der Bacillus auch bei Tauben anzusiedeln vermag, also möglicherweise auch bei anderen Vögeln. So wäre es ja denkbar, daß auch durch Tauben, Spatzen u. s. w. die Seuche von einem Geflügelhofe zum anderen verschleppt werden könnte.

Meinem hochverehrten Chef, Herrn Prof. B. Fischer, in dessen Auftrag ich die Studien über die dem Diphtheriebacillus verwandten Keime in Angriff genommen habe, möchte ich auch an dieser Stelle für die vielfache Förderung der vorliegenden Arbeit meinen Dank aussprechen.

### I. Literatur über Geflügeldiphtherie.

- 1) 1869 Rivolta, Il medico veterinario (zit. nach 68).
- 2) 1870 Perroncito, Il medico veterinario (zit. nach 21).
- 3) 1872 Siedamgrotzky, Bericht über das Vetrinärwes. im Königr. Sachsen (zit. nach 21).
- 4) 1873 Rivolta e Silvestrini, Dei parassiti veget.; ferner: Giornale di anat. etc. p. 42 (zit. nach 21).
- 5) 1875 Davaine, Dict. encyclop. (zit. nach 68).
- 6) 1878 Rivolta, Giornale di anat. fisiol. et patol. (zit. nach 68).
- 7) 1879 Cornevin et Nicati, Journ. de méd. vét. de Lyon (zit. nach 21).
- 8) — Friedberger, Deutsche Zeitschr. f. Tiermedizin. p. 161 (zit. nach 21).
- 9) — Mégnin, Revue d'hygiène. p. 585 (zit. nach 68).
- 10) — Nicati, Revue d'hygiène (zit. nach 68).
- 11) — Trasbot, Gaz. méd. de Paris. p. 465; ferner: Annales de méd. vét. (zit. nach 21).
- 12) 1880 Rivolta e Delpatro, L'ornitologia Pisa (zit. nach 68).
- 13) — Trinchera, La clinica vet. (zit. nach 21).
- 14) 1881 Menziès, Thèse de Paris (zit. nach 68).
- 15) 1882 Zürn, Die Krankheiten des Hausgeflügels. Leipzig. p. 104 (zit. nach 91).
- 16) 1883 Gerhardt, Verhandlg. d. II. Kongr. f. inn. Med. Allg. Wiener med. Zeitschr. (zit. nach 68).
- 17) — Roth, Adams Wochenschrift. p. 173 (zit. nach 68).
- 18) — Stumpf, Deutsches Archiv f. klin. Med. Bd. XXXVI.

- 19) 1884 Chicoli, *Sicilia agricola* (zit. nach 68).
- 20) — Emmerich, *Revue d'hygiène*. p. 850 (zit. nach 68).
- 21) — Löffler, *Mittel. aus d. Kais. Gesundheitsamte*. Bd. II. p. 482.
- 22) — Rivolta, *Giornale di anat. fisiol. e patol.* p. 3 (zit. nach 68).
- 23) — Sante Sirena, *Giornale internaz. delle sc. med.* Vol. VIII (zit. nach 68).
- 24) 1885 Colin, *Acad. des sciences*. 15. Jan. (zit. nach 68).
- 25) — Cornil et Mégnin, *Journal de l'anat.* p. 268 (Baumgarten, J.-B.).
- 26) — Rivolta, *Giornale di anat., fisiol. e patol.* p. 320 (zit. nach 68).
- 27) 1886 Boing, *Deutsche med. Wochenschrift*. p. 552.
- 28) — Longuet, *Stat. méd. de l'armée française*. p. 45 (zit. nach 68).
- 29) — Perroncito, *Il medico veterinario*. p. 249 (zit. nach 68).
- 30) 1887 Chaveau, *Revue d'hygiène*. p. 917 (zit. nach 68).
- 31) — Hingworth, *British med. Journal*. Vol. II. p. 166 (zit. nach 68).
- 32) — Krajewski, *Deutsche Zeitschr. f. Tiermedizin*. Bd. XIII. p. 311 (zit. nach 68).
- 33) — Longuet, *Revue d'hygiène*. p. 915 (zit. nach 68).
- 34) — Pütz, *Oesterreich. Zeitschr. f. Veterinärwiss.* Bd. I. Heft 1 (Baumgarten, J.-B.).
- 35) — Penzoldt, *Deutsches Arch. f. klin. Med.* Bd. XLII. Heft 1—3. p. 193.
- 36) — Tissier, *Revue d'hygiène*. p. 914 (zit. nach 68).
- 37) — Turner, *British med. Journal*. Vol. II. p. 416 (zit. nach 68).
- 38) — Wheler, *American practic.* (zit. nach 68).
- 39) 1888 Paulinis, *Bull. médical*. p. 90 (zit. nach 68).
- 40) — Yersin et Roux, *Annales de l'Inst. Pasteur*. T. II.
- 41) 1889 Barbier, *Gaz. méd. de Paris*. p. 37 (zit. nach 68).
- 42) — Klein, E., 18. *Annual Report of Med. Off. to Loc. Gov. Board*. (Baumgarten, J.-B.).
- 43) — Nocard, *Rec. de méd. vét.* p. 5 (zit. nach 68).
- 44) — Pfeiffer, L., *Zeitschr. f. Hygiene*. Bd. V. p. 363.
- 45) 1890 Babes u. Puscariu, *Zeitschr. f. Hygiene*. Bd. VIII. p. 376.
- 46) — Bermont, *Poincaré; Rev. méd. de l'est*. p. 633 (zit. nach 68).
- 47) — Bilhaut, *Journal de méd. de Paris*. p. 441 (zit. nach 68).
- 48) — Saint Yves-Ménard (u. Straus), *Revue d'hygiène*. No. 5. p. 410 (Baumgarten, J.-B.).
- 49) 1891 Barbier, *Ann. de la Soc. méd.-chir. de Liège*. Avril (zit. nach 68).
- 50) 1892 Debrie, *Arch. de méd. et pharm. militaire*. No. 3. p. 204 (ref. *Centralbl. f. Bakt.* Bd. XIII).
- 51) — Longuet, *Sémaine médicale*. p. 446 (zit. nach 68).
- 52) 1894 Cole *Arch. of pediatrics*. Vol. XI. p. 381 (zit. nach 68).
- 53) — Eberlein, R., *Monatshefte f. prakt. Tierheilkunde*. Bd. V. p. 433 (Baumgarten, J.-B.).
- 54) — Loir et Ducloux, *Annales de l'Inst. Pasteur*. T. VIII. p. 599.
- 55) — Piana e Galli-Valerio, *Il moderno Zooiatro* (zit. nach 68).
- 56) 1895 Artault de Vevey, *St., Compt. rend. de la Soc. de Biologie*. p. 683 (Baumgarten, J.-B.).
- 57) — Gallez, L., *Bull. de la Soc. Roy. de méd. de Belgique*. No. 22 u. 23 (Hyg. Rundsch. 1896).
- 58) — Moore, V. A., *U.S. Dep. of Agric. B. o. a. i. Bull.* Vol. VIII. p. 39 (Baumgarten, J.-B.).
- 59) — Ritter, J., *Allgem. med. Zentralzeitung*. No. 83—84 (*Centralbl. f. Bakt.* Bd. XIX. p. 662).
- 60) 1896 Barella, *Bull. de l'Acad. roy. de Belgique*. No. 3. p. 197 (Baumgarten, J.-B.).
- 61) — Faguet, E., *Thèse de Bordeaux* (Baumgarten, J.-B.).
- 62) — Ferré, G., *Journ. méd. de Bordeaux*. Juli u. August (Baumgarten, J.-B.).
- 63) — Gallez, L., *Sémaine médicale*. p. 136 (zit. nach 68).
- 64) — Gratia et Liénaux, *Annales de méd. vét.* p. 186 (zit. nach 68).
- 65) — Mazzanti, *Giornale R. Soc. e Acc. vet.* No. 10 (zit. nach 91).
- 66) — Schrevens, *Bull. Ac. de méd. Belgique*. T. VIII. p. 380 (zit. nach 68).
- 67) 1897 Ferré, G., *Arch. clin. de Bordeaux*. T. VI. No. 6. p. 275 (Baumgarten, J.-B.).
- 68) — Galli-Valerio, *Centralbl. f. Bakt.* Bd. XXII. p. 500.
- 69) — Theobald, *The parasitic diseases of poultry*, London (zit. nach 91).
- 70) 1898 Eber, W., *Zeitschr. f. Tiermedizin*. Bd. II. p. 201 (Baumgarten, J.-B.).
- 71) — Ferré, G., 9. *Congr. internat. d'Hygiène et de Demographie*. Madrid, *Sem. méd.* p. 163 (Baumgarten, J.-B.).
- 72) — Gratia et Liénaux, *Bull. de l'Acad. de Méd. de Belgique*. Avril (Baumgarten, J.-B.).

- 73) 1898 Stevenson, Journal of Comp. Med. July (zit. nach 91).  
 74) 1899 Lang, Recueil de méd. vét. T. LXXVI. No. 13 (Baumgarten, J.-B.).  
 75) — Mac Fadyean and Hewlett, The British med. Journal. Vol. II. p. 1357 (zit. nach 91).  
 76) — Piana, P., Il moderno Zooiatro. No. 21. p. 411 (Baumgarten, J.-B.).  
 77) 1900 Friedberger u. Fröhner, Lehrb. d. spez. Path. u. Ther. d. Haustiere. Bd. II. p. 467.  
 78) — Sharp, Lancet. Vol. II. p. 18 (Baumgarten, J.-B.).  
 79) 1901 Ghirardini, Arch. quindéc. de vet. e zootechnia, Pisa. Vol. VI. No. 11–15 (Baumgarten, J.-B.).  
 80) — Guérin, O., Annales de l'Inst. Pasteur T. XV. No. 12. p. 491.  
 81) — Murajeff, Arch. f. Vet.-Wiss. p. 605 (Baumgarten, J.-B.).  
 82) — Noulis, Gaz. méd. de l'Orient. No. 2. p. 572 (Baumgarten, J.-B.).  
 83) 1902 Guérin, C., Echo méd. du Nord. No. 6. p. 39 (Baumgarten, J.-B.).  
 84) — Klee, R., Thüringer landwirtsch. Zeitung. No. 13 (Baumgarten, J.-B.).  
 85) — Maxutow, Wratsch. No. 12 (Baumgarten, J.-B.).  
 86) 1903 Guérin, C., Recueil de méd. vétér. 15. Jan. (Baumgarten, J.-B.).  
 87) — Harrison, F. C., Dominion Med. Monthly. Toronto. March. (Baumgarten, J.-B.).  
 88) — Leith, Handbuch von Kolle u. Wassermann. Bd. II. p. 696.  
 89) — Petit, G., Bull. et mém. soc. anat. Paris. T. LXXVIII (Baumgarten, J.-B.).  
 90) 1904 Lehmann u. Neumann, Atlas u. Grundr. d. Bakt. Teil. II. p. 504.  
 91) — Streit, H., Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XLVI. p. 407.

## II. Sonstige benutzte Literatur.

- 92) Babes, V. im Handbuch von Kolle-Wassermann. Ergänzungsbd. 1906. p. 162.  
 93) Blumenthal u. Lipskerow, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX. 1905. p. 359.  
 94) Chudiakow, N., Moskau 1896 (ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IV. p. 389).  
 95) Cobbet, cf. Beck im Handbuch von Kolle-Wassermann. Bd. II. p. 826.  
 96) Cooke, zit. nach O. Roth, Klinische Terminologie. Erlangen 1889.  
 97) Ellermann, V., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. 1905. p. 383.  
 98) Engelmann und Beijerinck, zit. nach Flügge, „Mikroorganismen“. Bd. I. 1896. p. 129.  
 99) Kedrowski, Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XX. 1895. p. 358.  
 100) Klein, E., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXVIII. 1900. p. 418.  
 101) Müller, Reiner u. Gräf, H., Münch. med. Wochenschr. 1906. p. 69.  
 102) Müller, Reiner, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XL. 1906. p. 613.  
 103) Reischauer, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XL. 1906. Heft 3–5  
 104) Pasteur, Compt. rend. 1861. T. LII. p. 344 u. 1260.  
 105) Pick, Berliner klin. Wochenschr. 1900. No. 41 u. 42.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber den Streptococcus mucosus und seine Unterscheidung von anderen Streptokokkenarten.

[Aus dem hygienischen Institut zu Kiel. Direktor Prof. Fischer.]

Von Dr. Gerh. Schumacher,

Assistenten am Untersuchungsamt für ansteckende Krankheiten.

Die Versuche einer großen Reihe von Autoren, die Streptokokken nach Krankheitsformen, Kettenlänge, kulturellen Eigenschaften, durch Immunisierung und Agglutination in verschiedene Arten zu trennen, haben bisher nicht zu einem un widersprochenen Resultat geführt. Auch die Kraft, den Blutfarbstoff zu lösen, wurde mehrfach zur Differenzierung herangezogen, ohne daß die Untersucher zu einem übereinstimmenden Urteil gekommen wären.

Im Jahre 1903 veröffentlichte Schottmüller seine Züchtungsversuche auf einem Blut-Agargemisch, die ihm die Möglichkeit boten, 4 Arten von Streptokokken zu unterscheiden, Versuche, die schon mehrfach in der Literatur Berücksichtigung gefunden haben.

Schottmüller unterschied

1) den *Streptococcus longus* s. *erysipelatos*,

2) den *Streptococcus mitior* s. *viridans*,

3) den *Streptococcus mucosus*,

4) den *Streptococcus lanceolatus* (*Pneumococcus*),

von denen zunächst der *Streptococcus mucosus* als eine neue noch nicht präzierte Art hervorgehoben sei.

Im hygienischen Institut zu Kiel wurde schon früher in einzelnen Fällen ein *Streptococcus* gefunden, der mit diesem identisch gewesen zu sein scheint. Genauere Notizen fanden sich über einen 1902 von Herrn Professor Fischer, dem ich für die Ueberlassung des Materials Dank schulde, aus einem Falle von Keuchhusten isolierten „Schleimstreptococcus“, der neben einem als Erreger angesprochenen influenza-ähnlichen Bakterium (von Krause und Jochmann) gezüchtet wurde.

Um Wiederholungen zu vermeiden, sei hier nur bemerkt, daß Herr Prof. Fischer den *Streptococcus* von den gewöhnlichen Streptokokken sowohl, wie auch von Pneumokokken trennen zu müssen glaubte und ihn für identisch hielt mit einem von Binaghi aus einer Meerschweinchenpneumonie gewonnenen „*Str. capsulatus*“, und dem von Hlava bei Scharlachangina, Appendicitis etc. gefundenen „*Leuconostoc hominis*“. Die Ergebnisse der Untersuchung zeigten so wenig Abweichungen von den neuerdings gefundenen Eigentümlichkeiten, daß sie mit diesen behandelt werden können.

1888 beschrieb Ortmann einen von ihm als *Pneumococcus* angesehenen Diplo- resp. *Streptococcus*, der sich kulturell eigenartig verhielt und auf Nährböden Kapseln bildete.

Ueber ähnliche Kapselstreptokokken berichten 1890 Babes bei Influenza und Bonome bei Cerebrospinalmeningitis; beide unterschieden sie sowohl von den gewöhnlichen Streptokokken, wie von Pneumokokken. Während der *Str. conglomeratus* von Kurth, Klein und anderen sich nicht als *Str. mucosus* rekognoszieren läßt, ist vielleicht der Maststreptococcus, *Str. aggregatus*, von Seitz, der schon erwähnte *Str. capsulatus* von Binaghi und der Kapselstreptococcus von le Roy des Barres und Weinberg mit diesem identisch, sowie mit größerer Wahrscheinlichkeit ein von Lewkowiez aus Stuhl und Cerebrospinalflüssigkeit gezüchteter pneumokokkenähnlicher Kapselstreptococcus, ferner der *Leuconostoc Hlavas* und ein *Streptococcus encapsulé* von Tavel und Krumbein, der allerdings kulturell sich recht abweichend verhielt. Auch Neumann und Nobécourt et de Vicariis haben unabhängig von Schottmüller kapseltragende Streptokokken beschrieben. Nach Bürger, der selbst in mehreren Fällen den in Rede stehenden *Streptococcus* fand, wurde der Name *Streptococcus mucosus* schon früher von Howard und Perkins gebraucht. Nach Referat hat denselben *Streptococcus Longcope*, ferner Richardson und Pasquale gefunden.

Der *Streptococcus mucosus* wurde in mehreren Fällen reingezüchtet.

Fall I. Aus den Meningen eines an Hirnhautentzündung im Anschluß an Otitis media gestorbenen Kindes. Im Ausstrichpräparat



wurden nur kapseltragende Kokken in runder Doppelform, selten in kurzen Ketten, gefunden. Der otitische Eiter kam nicht zur Untersuchung.

Fall II. Aus Sputum von einem an chronischem Lungenkatarrh (mit Verdacht auf Tuberkulose) leidenden Mädchen. Im Ausstrichpräparat fanden sich neben wenigen gramnegativen Doppelstäbchen nur grampositive Diplokokken, zuweilen in kurzen Ketten bis zu 6 Doppelgliedern, meist mit Kapseln. Eine sofort erbetene Probe ergab dasselbe Resultat. Nach Verlauf von 20 Wochen fanden sich neben diesen Bakterien Staphylokokken (*Staphyl. albus*) und Pneumokokken. 7 Wochen später wurden nur wenige Streptokokken gezüchtet. Während nun die gramnegativen Diplobacillen das Bild beherrschten.

Fall III—VI. Aus Mandelabstrichen bei Diphtherie von Kindern im Alter von 2, 4, 7 und 13 Jahren. Außer Diphtheriebacillen fanden sich in 2 Fällen noch andere Streptokokken.

Fall VII—IX. Aus Mandelabstrichen bei Angina. Daneben fanden sich in einem Falle noch andere Streptokokken, im 2. Falle Staphylokokken und Pseudodiphtheriebakterien, im 3. Falle *Staphylococcus albus*, Pseudodiphtheriebakterien und andere Streptokokken.

Fall X. Aus Sputum bei Keuchhusten vereinzelt neben anderen Bakterien (keine Influenzabacillen).

Fall XI. Aus Mandelabstrich von normalem Halse; bei der 1. Untersuchung fanden sich außerdem noch andere Streptokokken, bei der 2. wurde kein *Str. mucosus* gezüchtet, bei der 3., 4. und 5. Nachuntersuchung fanden sich neben Kapselstreptokokken wieder andere Streptokokken, Staphylokokken und Pneumokokken.

Zur Kontrolle konnten 3 *Streptococcus mucosus*-Stämme verwandt werden, die Herr Prof. E. Fränkel in sehr liebenswürdiger Weise auf diesseitigen Wunsch zur Verfügung stellte, und zwar ein alter Laboratoriumsstamm und zwei frische Stämme (aus dem Wirbelmark bei einer Spondylitis mit Psoasabsceß und aus dem Leichenblut eines an Pneumonia fibrinosa gestorbenen Patienten gezüchtet). Herrn Prof. Fränkel sage ich für seine Freundlichkeit verbindlichsten Dank.

Der *Streptococcus mucosus* hat die Neigung, als Doppelcoccus aufzutreten, besonders im Tierkörper sieht man vorwiegend Diplokokken selten in Verbänden zu 2 oder 4 bis 6, die dann in Kettenform angeordnet sind. Dieses Verhalten trifft zu für das Versuchstier sowohl, wie auch für das Ausgangsmaterial vom Menschen, für Sputum, Rachensekret und Meningealeiter in gleicher Weise.

Auf künstlichem Nährboden herrschte die kurze Kette vor, bestehend aus meist deutlich erkennbaren Diplokokken; 3—10 Doppelglieder war das Häufigere, doch auch 50—60 und mehr Doppelglieder wurden gezählt, wie andererseits auch manchmal die einfache Doppelform das Bild beherrschte.

Der Einzelcoccus ist meist rund, es finden sich kreisrunde Formen, besonders im Tierkörper, wo gerade die runde Form charakteristisch ist; doch sieht man auch hier längliche Einzelkokken mit und ohne Teilungsfurche, wie solche auch in der Kultur vorkommen, wo in einer Kette alle Stadien und Arten der Teilung häufig nebeneinander vorkommen, darunter auch kurze, scheibenähnliche Kokken; dabei kann eine Doppelform aus einem solchen kurzen und einem länglichen Coccus bestehen. Die Dicke der Einzelkokken ist sehr wechselnd; nicht nur verschiedene Ketten einer Kolonie hatten verschieden dicke Glieder,

sondern auch in einer Kette, ja in einer Doppelform konnte ein Coccus den anderen um mehr als das Doppelte an Dicke übertreffen. Besonders häufig fand sich das letzte Einzel- oder Doppelglied einer Kette kuglig oder keulenförmig verdickt (nach Art von Involutionsformen). Die Teilung erfolgt senkrecht zur Längsrichtung der Kette, selten fanden sich an den Kettenenden ein oder zwei Doppelglieder zugleich in querrer Richtung geteilt, wie es ähnlich von Babes beschrieben ist. Die Ketten sind zumeist starr, wohl deshalb, weil sie von einer Hülle umgeben sind; diese ist im Tierkörper leicht färbbar (im Rachensekret weniger gut, eine Erscheinung, die für den Pneumococcus auch angegeben wird); auf künstlichen Nährböden konnte dies auch in den meisten Fällen dargestellt werden. Sie ist verschieden breit, 3—4mal so breit, aber auch nur wenig breiter als die Kokken, auch in einer Kette wechselnd, vielfach mit Einschnürungen, den Zwischenräumen zwischen den Kokken entsprechend. Zuweilen in Kultur-, häufiger in Organausstrichen war die Kapsel so intensiv gefärbt, daß die Bakterien selbst nicht deutlich zu sehen waren oder als sehr dicke Exemplare erscheinen; manchmal fanden sich auch leere Hüllen, oft neben kapseltragenden hüllenlose Bakterien. Die ungefärbte, oder, wie einige Untersucher sagen, negativ gefärbte Kapsel fand sich häufig. In wechselnd großem Abstände von den Einzelbakterien oder Ketten lief um diese ein mehr oder weniger gut gefärbter Strich, von dem nach außen hin strahlig andere Striche verliefen, die eine Verbindung mit der Nachbarhülle herstellten. Es ließ sich diese ungefärbte Kapsel stets unterscheiden von Bildern, die man bei nicht genügend vorsichtiger Fixierung dadurch erhält, daß das Substrat, in dem die Bakterien liegen, geschrumpft und daher zurückgewichen ist.

Am besten schien die Hülle bei jungen Kulturen auf Löffler-Serum darstellbar (cf. Bürger, der dasselbe fand), aber auch Agar-, Blutagar- und andere Kulturen, und auch alte, lange auf künstlichen Nährböden gezüchtete Stämme ließen sie erkennen.

Die Färbung der Kapsel war oft schwierig und von Zufälligkeiten abhängig. Die vielen Färbemethoden lassen schließen, daß auch andere Untersucher kein konstantes Resultat erhielten. Diese teilweise feinen Methoden gaben kein wesentlich besseres und sicheres Resultat als die einfache Färbung mit Gentianaviolett, Fuchsin oder Methylenblau bei vorsichtiger Fixierung mit Alkohol und Betrachtung im Wassertropfen.

Wenn auch die Färbung im Stich ließ, konnte im hängenden Serum- oder Kochsalzlösungstropfen die Kapsel betrachtet werden.

In Organausstrichen fanden sich bei Färbung nach der Gramschen Methode die Kapseln oft mit der zur Nachfärbung benutzten Farbe gut gefärbt.

Auf Löffler-Serum, das bei den aus dem Halse gezüchteten Stämmen zuerst benutzt wurde, entstanden in 15—24 Stunden, zuweilen erst später stecknadelkopf- bis linsengroße, erhabene, klare, glasige Kolonien, die einem Wassertropfen sehr ähnelten; bei feuchterem Nährboden etwas größer, mehr zusammenfließend oder über andere Kolonien hinwegwachsend, verloren sie ihre fadenziehende Beschaffenheit ein wenig, die auf trocknerem Substrat bei Berührung mit der Platinnadel deutlicher war. Die Kolonien trockneten bald ein, im Brutschrank nach weiteren 24—40 Stunden, bei Zimmertemperatur in 3—5 oder mehr Tagen, sie hinterließen einen leicht erhabenen Rand, oft einen zentralen Nabel und hatten zuweilen einen etwas graubräunlichen Ton. (Nur

Bürger erwähnt das gute Wachstum auf Löfflerschem Serum, auf dem Schottmüller und Neumann den Streptococcus nur schlecht wachsen sahen.)

Auf gewöhnlichem alkalischen Agar erreichten die Kolonien einen Durchmesser von 3 mm, waren klar oder bei auffallendem Licht leicht graubläulich, bei schwacher Vergrößerung leicht gekörnt, bildeten bei dichter Aussaat einen glänzenden Belag; in der Tiefe blieben sie etwas kleiner und waren leicht graugelblich. Trauben- und Milchzuckerzusatz verbesserte das Wachstum nicht, während auf Lackmus-Laktose-Agar (nach v. Drigalski u. Conradi) üppigere Kolonien wuchsen, die die Farbe des Nährbodens unverändert ließen. Fränkel benutzt diesen Nährboden mit gutem Erfolg zur Fortzucht, jedoch hängt das Wachstum sehr von der jeweiligen Abkochung ab; Zusatz von Kristallviolett hemmt das Wachstum. Glycerinagar wurde 1902 und auch neuerdings mit gutem Erfolg verwandt; Zusatz von etwas Eigelb zu gewöhnlichem Agar erhöhte die Wachstumsenergie. Auf allen Agarnährböden trockneten die Kolonien in kürzerer oder längerer Zeit ebenfalls ein.

In ausgiebiger Weise wurde von einem Blutagargemisch Gebrauch gemacht, das in folgender Weise hergestellt war: In geschmolzenem Nähragar, der auf 45–50° abgekühlt war, wurde direkt aus einer Ziegenvene durch eine Kanüle Blut in beliebiger Menge geleitet, umgeschüttelt und in Platten oder Reagenzgläser ausgegossen, oder zu genaueren Dosieren wurde frisches Ziegenblut mit Hirudin ungerinnbar gemacht und dann demselben Agar zugesetzt. (Es wurde auch Blut von Ziegen, die mit Kulturen von Typhus etc. vorbehandelt waren, benutzt, ohne daß solches einen Einfluß auf das Wachstum der Streptokokken erkennen ließ.) Menschenblut wurde nur selten verwandt; ein Unterschied im Wachstum bei Benutzung dieser beiden Blutarten wurde nicht beobachtet.

Das Wachstum war erheblich üppiger als auf gewöhnlichem Agar, es bildeten sich saftige bis linsengroße Kolonien, in deren Bereich der Blutfarbstoff eine schmutzig grüngraue Färbung annahm, ohne zunächst aufzuhellen; eine Aufhellung trat nach 2–3 Tagen und auch dann nur in schmaler Zone um die Kolonie herum auf, wenn Blut in Mengen von 5 oder mehr Prozent dem Agar zugesetzt wurde, bei geringeren Mengen eher und in etwas breiterer Zone. Ein „grüngrauer Belag“, wie ihn Schottmüller beschreibt, fand sich nie, vielmehr nahm der Nährboden, wie gesagt, diese Färbung an, während die Kolonie selbst ungefärbt resp. grau aussah, wie man beim Abtragen des „Belages“ und dickem Auftragen auf Glas sah.

Auch auf diesem Nährboden trockneten die Kolonien nach einigen Tagen ein.

Auf Gelatine entstanden leicht graubläuliche, später gelblich werdende Kolonien von 1–2 mm Durchmesser, in der Tiefe erreichten sie fast dieselbe Größe; bei Blutzusatz von 10 Proz. wurde das Wachstum etwas üppiger und es traten hier dieselbe grüngraue Färbung und nach einer Reihe von Tagen Aufhellung des Blutfarbstoffs auf wie beim Blutagar. Nur einige ganz junge Kulturen wuchsen noch bei 20°, meist wurde bei weniger als 20° kein Wachstum erzielt, bei 25° erreichten die Kolonien nach 2–4 Tagen die Größe einer Linse und trockneten dann ebenfalls langsam ein.

(Schluß folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Der Bakteriengehalt der Nase bei den Infektionskrankheiten, mit besonderer Berücksichtigung der Meningitis cerebrospinalis epidemica.

[Aus der bakteriologischen Abteilung des Operationskursus für Militärärzte (Oberstabsarzt Prof. Dr. Dieudonné) und der Ohrenstation des Garnisonlazarets München (Stabsarzt Dr. Hasslauer).]

Von Stabsarzt Dr. **Hasslauer**, München.

Vor einigen Jahren<sup>1)</sup> wurde in einer größeren Untersuchungsreihe der Bakteriengehalt der Nase im gesunden wie im kranken Zustand (Rhinitis acuta, Rhinitis chronica, Hypertroph. conchae, Rhinitis atrophicans simplex und foetida) festzustellen versucht und hierbei folgende Mikroorganismen festgestellt:

Staphyl. pyog. albus und aureus, Streptococcus pyogenes, Diplococcus pneumoniae, Bacterium pneumoniae Friedländer, Bacillus der Pseudodiphtherie, Bacterium haemorrhagicum, ferner noch Luftkokken, Sarcina, Schimmelpilze, Subtilis, Fäulnisbakterien und Spirillen.

Am häufigsten fand sich der Streptococcus, der Diplococcus, der Staphylococcus und der Pseudodiphtheriebacillus.

Die Untersuchungen ergaben, daß in der gesunden wie in der kranken Nase sich dieselben Bakterienarten finden, nur mit dem Unterschiede, daß bei Entzündungszuständen der Nasenschleimhaut der Bakteriengehalt ein ungleich größerer ist als im gesunden Zustande; den einen oder anderen pathogenen Keim aber als spezifischen Erreger anzusprechen, dafür haben sich keine Anhaltspunkte ergeben.

Nachdem nun fast allgemein der Nase als Eintrittspforte für die verschiedenen akuten Infektionskrankheiten eine Hauptrolle zugeschrieben wird, schien es uns von großem Interesse, festzustellen, welcher Art das bakteriologische Verhalten der Nasenschleimhaut bei den einzelnen Infektionskrankheiten ist und ob daraus allenfalls Schlüsse gezogen werden könnten für die Aetiologie dieser Krankheiten.

Vorausgeschickt wurden wieder zur Kontrolle eine Anzahl von Untersuchungen normaler Nasenschleimhäute, von akuten und chronischen Nasenkatarrhen, alsdann folgten bakteriologische Untersuchungen der Nasenschleimhaut bei Gesichtserysipel, das meist seinen Ausgang von der Nase nimmt, bei Lungenentzündung, Unterleibstypus, Scharlach, Diphtherie, Influenza, akutem Gelenkrheumatismus, bei dem die oberen Luftwege ebenfalls im Anfang der Erkrankung sich häufig beteiligen, und bei Meningitis.

Die meisten Untersuchungen wurden gelegentlich einer kleinen Epidemie von Meningitis cerebrospinalis epidemica gemacht, bei welcher Erkrankung die Nase allgemein als die Eintrittspforte für den Meningitiserreger gilt. Neben den deutlich ausgesprochenen Fällen von Genickstarre wurden auch alle mit den Erkrankten auf dem gleichen Zimmer liegenden Leute und außerdem auch alle die Leute, die in dem

<sup>1)</sup> Hasslauer, Die Bakterienflora der gesunden und kranken Nasenschleimhaut. (Centr. bl. f. Bakt. 1902. Bd. XXXIII. p. 47.)

betroffenen Truppenteil mit fieberhafter Erkrankung zuziehen, einer Untersuchung unterzogen. Bei einer größeren Anzahl von Fällen wurde die Untersuchung nach Ablauf der Erkrankung wiederholt, um eine allenfallsige Veränderung der Bakterienflora feststellen zu können.

Auf diese Weise wurden 192 Leute einer Untersuchung unterworfen und an diesen 251 bakteriologische Untersuchungen vorgenommen. Die bakteriologischen Untersuchungen wurden in der unter Leitung des Herrn Oberstabsarztes Prof. Dr. Dieudonné stehenden bakteriologischen Abteilung des Operationskursus für Militärärzte vorgenommen.

Vor Entnahme der Sekretproben wurde erst eine Besichtigung des Naseninnern vorgenommen und der Befund festgestellt, alsdann wurde der Naseneingang bis an die Nasenschleimhautgrenze entweder mit Sublimatlösung oder einfacher Kochsalzlösung mechanisch gereinigt. Dadurch wurden die mit der Atmung in die Nase gelangten und am Naseneingang und von den Vibrissen festgehaltenen Keime, gleichviel welcher Art, beseitigt und eine einwandfreie Feststellung des bakteriologischen Inhalts des Naseninnern selbst gesichert. Unter Spiegelbeleuchtung wurde sodann, ohne am Naseneingang anzustreifen, mit einer langen ausgeglühten Platinöse bis in den Nasenrachenraum nach hinten gegangen, im Herausgehen die mittlere und untere Muschel sowie das Vestibulum septi narium bestrichen und davon Ausstriche gemacht. Sekretproben wurden bei jedem Untersuchten aus jeder Nasenhälfte für sich entnommen. Vor allem wurde ein Ausstrich auf einen Objektträger behufs mikroskopischer Untersuchung gemacht, alsdann weitere Sekretproben auf Platten von Serumagar, der als der günstigste Nährboden von uns festgestellt wurde, ausgestrichen. In einer Reihe von Fällen wurden außerdem Kulturen auf schrägem Traubenzuckerglycerinagar angelegt, um allenfallsige Änderungen im Wachstum konstatieren zu können.

1) Normalaussehende Nasenschleimhäute an Gesunden kamen in 8 Fällen zur Beobachtung: 7mal erwies sich der mikroskopische Ausstrich steril, 1mal fanden sich große Luftkokken und Diplokokken. Kulturell fanden sich:

Staphylococcus aureus in Reinkultur	1mal
Staphylococcus albus in Reinkultur	1mal
Staphylococcus albus und Diplostreptokokken	1mal
Diplokokken und Staphylokokken	1mal
Diplokokken (gonokokkenähnlich) und Streptokokken	2mal
Streptokokken und Sarcina	1mal
Kultur steril	1mal

Auffallend war ein ganz geringes Wachstum auf den Kulturen, höchstens 2—4 ganz kleine Kolonien, im mikroskopischen Ausstrich wurden nur 1mal Mikroorganismen gefunden, Diplokokken, während kulturell Staphylokokken wuchsen.

Eine Abweichung des Resultates in dieser Gruppe von meinen früheren Untersuchungen hat sich nicht ergeben, von Interesse ist nur der eine Punkt, das zwei von diesen Fällen später an einer akuten Rhinitis erkrankten. Diesmal fand sich auf den Serumagarplatten massenhaftes Wachstum, in dem einen Fall mikroskopisch Diplokokken, kulturell Streptokokken und Staphylokokken, im anderen Falle mikroskopisch steril, während sich im gesunden Zustande Luftkokken und Diplokokken gefunden hatten, kulturell Staphylokokken, daneben eine Reinkultur kleiner

plumper Stäbchen mit abgerundeten Ecken, die Gelatine nicht verflüssigten und mit Gasbildung wuchsen.

Diese 2 Fälle bestätigen wieder die Bakterienzunahme auf der Nasenschleimhaut im kranken Zustande. In einem Falle war auf Glycerinagar nur der *Staphylococcus* in Reinkultur gewachsen, während auf Serumagar der *Diplococcus*, teilweise in Kettenform, entstand.

## 2) Rhinitis acuta. 18 Fälle.

In 17 Fällen handelte es sich um den gewöhnlichen akuten Schnupfen, in einem Falle um eine Rhinitis fibrinosa.

Mikroskopisch wurden 6mal Diplokokken festgestellt, darunter 1mal gonokokkenähnliche teilweise extracelluläre und intracelluläre bei einem einjährig-freiwilligen Arzt, der aus dem Genickstarregebiet in Schlesien gekommen war, und 1mal schöne Kapseldiplokokken neben einzelstehenden Kokken. In je einem weiteren Falle fanden sich Kapselstäbchen bzw. Kokken. Die 9 übrigen Fälle erwiesen sich steril.

Kulturell fanden sich:

<i>Micrococcus catarrhalis</i> (Pfeiffer)	1mal
Staphylokokken, rein	1mal
Streptokokken, rein	1mal
Pseudodiphtherie, rein	2mal
Diplostreptokokken, rein	1mal
Subtilis, rein	1mal
Diplokokken, Diplostreptokokken und Staphylokokken 1mal verunreinigt mit <i>Proteus</i>	6mal
Streptokokken und Staphylokokken	1mal
Kokken und Stäbchen	1mal
Steril	2mal
<i>Proteus</i> -Verunreinigung	1mal

Auffallend ist in dieser Gruppe das häufige Vorkommen der Diplokokken, sowohl mikroskopisch wie kulturell. Von der Bakterienflora der gesunden Nase unterscheidet sich diese Gruppe durch ein stärkeres, wenn auch nicht reichliches Wachstum auf den Platten. Hervorgehoben zu werden verdient ein Fall, der sich mikroskopisch und kulturell steril erwies. Als eine zweite Platte durch Aufnießen angelegt wurde, erzielte man ein massenhaftes Wachstum der ganzen Platte, hauptsächlich Diplokokken neben großen Luftkokken. Dieser Fall beweist, daß nur die lokale Entnahme über den wahren Bakteriengehalt der Nase Aufschluß gibt, und daß die eingedrungenen Mikroorganismen zum größten Teil am Naseneingang aufgefangen werden.

In 2 Fällen wurde nach Ablauf der Rhinitis eine zweite Untersuchung vorgenommen. In dem einen Falle wurde derselbe Mikroorganismus auf der nunmehr gesunden Schleimhaut nachgewiesen, im anderen Falle hatte der auf der entzündeten Schleimhaut festgestellte *Pseudodiphtheriebacillus* dem *Staphylococcus* Platz gemacht, der auch bei einer neuen Schnupfenattacke seinen Platz behauptete, wie gelegentlich einer dritten Untersuchung sich ergab.

In dem Falle von fibrinöser Rhinitis fanden sich mikroskopisch Friedländer-ähnliche Kapselstäbchen, meist zu zweien angeordnet, kulturell wurden jedoch Diplostreptokokken erzielt.

Bei 3 Fällen wurden außer auf Serumagar auch auf Glycerinagar Ausstriche gemacht; im einen Falle gingen nur Staphylokokken an, während auf Serumagar auch Diplokokken und Diplostreptokokken gewachsen waren, im anderen Falle waren neben den auf Serumagar ge-

wachsenen Diplokokken und Staphylokokken noch pseudodiphtherieähnliche Stäbchen gewachsen, im 3. Fall endlich wuchsen Diplokokken und Diplostreptokokken wie auf Serumagar.

Ausführlichere Besprechung verlangt ein Fall von chronischer Mittelohreiterung gleichzeitig bei akutem Nasenrachenkatarrh. Plötzlich setzte unter Temperaturerhöhung und Druckempfindlichkeit des Warzenfortsatzes ein profuser dünnflüssiger Ohrenfluß ein, so daß buchstäblich der Eiter in Strömen abfloß. Im Ohreiter zeigten sich mikroskopisch massenhaft intracelluläre Diplokokken, so daß man das typische Bild eines Gonokokkeneiters vor sich zu haben glaubte. Dasselbe Bild im Nasensekret. Kulturell wurde jedoch der *Micrococcus catarrhalis* (R. Pfeiffer) festgestellt. Dies ist meines Wissens der erste Fall, in dem der *Micrococcus catarrhalis* auch im Ohreiter nachgewiesen wurde. Nur Westenhöffer berichtet über einige bei Lungenentzündung aufgetretene Otitiden, in deren Sekret meningokokkenähnliche, intracelluläre Diplokokken festgestellt wurden, doch fehlt der kulturelle Nachweis. Der akute Nachschub der Ohreiterung dürfte unzweifelhaft durch eine Invasion des Mittelohres durch den *Micrococcus catarrhalis* von der Nase her veranlaßt worden sein.

### 3) Rhinitis chronica. 7 Fälle.

6 Fälle waren mikroskopisch steril, im anderen Falle (Ozaena) fand sich der *Bacillus capsulatus* in Reinkultur, der auch kulturell neben vereinzelt Streptokokken erzielt wurde. Kulturell fand sich 2mal in Reinkultur der *Diplococcus* und *Diplostreptococcus*, 3mal der *Staphylococcus*, im 6. Falle schließlich der *Diplostreptococcus* und *Staphylococcus* zusammen.

### 4) Lungenentzündung. 11 Fälle.

9 Fälle fanden sich mikroskopisch steril, in einem Falle massenhaft typische Pneumokokken mit Kapseln, im anderen kurze, plumpe Stäbchen.

Kulturell fanden sich:

Pneumokokken in Reinkultur	2mal
Staphylokokken in Reinkultur	3mal
Pseudodiphtherie in Reinkultur	1mal
Sarcine in Reinkultur	1mal
Diplokokken teilweise in Kettenform und Staphylokokken	3mal
in einem Fall daneben <i>Bact. Friedländer</i>	
<i>Subtilis</i> , Staphylokokken und Streptokokken	1mal

Mit Ausnahme eines einzigen Falles befand sich die Nasenschleimhaut in mehr oder weniger katarrhalisch entzündetem Zustand, auch enthielt die Nase in fast der Hälfte der Fälle den *Diplococcus Fränkel*, darunter 2mal in typischer Kapselform, in einem weiteren Falle sogar mikroskopisch fast in Reinkultur. Auf allen Platten fand sich ein ziemlich reichliches Wachstum mit einigen Ausnahmen, in denen auffallend wenig wuchs.

### 5) Influenza. 11 Fälle.

In 8 Fällen war der mikroskopische Ausstrich steril, in den 3 anderen fanden sich Diplokokken. Kulturell fanden sich:

Staphylokokken, rein	5mal
1mal <i>Subtilis</i> als Verunreinigung	
Diplokokken, rein	2mal
Diplokokken und Staphylokokken	3mal
Steril	1mal

In allen 11 Fällen fand sich die Nasenschleimhaut katarrhalisch entzündet. Als einziger Befund wurden Staphylokokken und Diplokokken zu gleichen Teilen, nicht einmal der Influenzabacillus festgestellt. Auch auf Glycerinagar wurde in 7 Fällen das gleiche Wachstum wie auf Serumagar erzielt, der Bakteriengehalt war in dieser Gruppe ein ziemlich kleiner; nur auf einigen Platten gingen etwas mehr Kolonien auf, im übrigen aber war nur geringes Wachstum zu sehen.

6) Gesichtserysipel. 2 Fälle.

In dem einen Falle war neben entzündeten Rhagaden am Naseneingang auch die benachbarte Nasenschleimhaut entzündet, im anderen Falle fanden sich nur Rhagaden am Naseneingang mit Entzündung der Nasenflügel, das Naseninnere aber bot nichts Krankhaftes.

Im ersten Falle fanden sich Diplokokken, teilweise in Kettenform angeordnet, Staphylokokken und Pseudodiphtheriebacillen bei ziemlich reichlichem Wachstum. Nach Abheilen des Erysipels wurde der Naseninhalte neuerdings untersucht und diesmal bei spärlichem Wachstum Streptokokken, Staphylokokken und Diplokokken gefunden, letztere wiederum mit Neigung zur Kettenbildung.

Im zweiten Fall wuchsen Staphylokokken und Diplokokken mit Neigung zu Kettenbildung bei ziemlich starkem Wachstum. Nach der Heilung wurden Streptokokken, Staphylokokken und Diplokokken, teilweise in Kettenform, gezüchtet mit nur spärlichem Wachstum.

Ein mikroskopischer Ausstrich konnte in diesen beiden Fällen leider nicht angelegt werden. Auffallend ist hier das Auftreten des Streptococcus in beiden Fällen erst nach der Heilung, während derselbe im floriden Stadium des Erysipels nicht festzustellen war. Möglich ist, daß er als der Erreger des Erysipels von Anfang an vorhanden war, mit dem Einsetzen der akuten Erscheinungen aber von den anderen Erregern überwuchert wurde.

7) Scharlach. 5 Fälle.

Die Nasenschleimhaut fand sich in allen Fällen katarrhalisch entzündet. Mikroskopisch wurden 2mal Kokken, 1mal Kurzstäbchen und Diplokokken, 1mal Influenzabacillen in Reinkultur festgestellt, 1mal war der Ausstrich steril, ebenso aber auch die Kultur. Im letzteren Falle wurde nach der Heilung eine zweite Untersuchung vorgenommen und nunmehr der Streptococcus neben Staphylokokken gezüchtet; das gleiche auffallende Verhalten wie bei den Erysipelfällen, daß der für die Krankheit charakteristische Erreger erst nach dem Verschwinden der Krankheitserscheinungen in der Nase gefunden wird.

Nicht weniger interessant ist der mit massenhaft Influenzabacillen im Ausstrich gefundene Fall, bei dem auch auf Serumagar die gleichen Erreger wuchsen neben Diplokokken, während auf Glycerinagar nur Diplokokken und Staphylokokken entstanden, aber keine Influenzabacillen. In welchem Verhältnis diese zur Hauptkrankheit stehen, läßt sich natürlich nicht nachweisen, doch dürfte die Annahme einer Mischinfektion die allein richtige sein.

In den 3 übrigen Fällen wurden 2mal Staphylokokken neben Diplokokken mit Neigung zur Streptokokkenform erzielt, 1mal nur Staphylokokken.

8) Typhus abdominalis. 3 Fälle.

Es fand sich in 2 Fällen geringe Entzündung der Nasenschleimhaut,



besonders am Vestibulum septi narium mit Borkenbildung, in einem Falle sah die Nasenschleimhaut normal aus. Im letzteren Falle war der mikroskopische Ausstrich steril; auf Glycerinagar wuchsen Diplokokken mit teilweiser Kettenbildung neben Staphylokokken. Auf Endo-Platte wurde kein Wachstum erzielt. In den beiden ersten Fällen war der mikroskopische Ausstrich ebenfalls steril, auf Glycerinagar wuchsen massenhafte Diplokokken in Kettenform neben Staphylococcus aureus. Auf Drigalski-Böden wuchsen coliähnliche Stäbchen mit abgerundeten Ecken und Rotfärbung des Nährbodens. In Lackmusmolke starke Säurebildung, Milch wird koaguliert, Gelatinestich ohne Verflüssigung mit Gasbildung, keine Indolbildung.

In einem Falle wurde eine Endo-Platte angelegt und reichliches rotes Wachstum mit hochrotem Hof erzielt, das aus einer Reinkultur von kleinen zarten Stäbchen bestand. Coliähnlich, jedoch nicht festzustellen.

Im einen Falle wurde nach Ablauf des Typhus bei normaler Nasenschleimhaut eine zweite Entnahme gemacht, mikroskopisch Kapseldiplokokken, einzelne schlanke Stäbchen und Kokken festgestellt, kulturell auf Glycerinagar Staphylococcus aureus neben Diplokokken mit Neigung zur Kettenbildung und Bacterium pneum. Friedländer gezüchtet, auf Drigalski-Böden wieder coliähnliche Stäbchen.

#### 9) Diphtherie. 3 Fälle.

In allen 3 Fällen akuter Nasenkatarrh. Echte Diphtheriebacillen im Mundbelag. Mikroskopisch 2mal steril, 1mal Diplokokken. Auf Löffler-Serum 2mal Diplokokken, teilweise in Kettenform, daneben Staphylococcus aureus bzw. albus, 1mal Staphylococcus albus neben Pseudodiphtheriebacillen.

In 2 Fällen wurde nach Ablauf der Rachendiphtherie eine zweite bakteriologische Untersuchung des Racheninhalts gemacht. In dem einen Falle fanden sich trotz Ablauf aller entzündlichen Erscheinungen im Rachen noch nach 3 Wochen echte Diphtheriebacillen, während in der Nase sich nur Staphylokokken fanden, dann verschwanden die Diphtheriebacillen auch aus dem Rachen. In dem zweiten Falle hielten die katarhalischen Erscheinungen in der Nase noch nach 14 Tagen an, es fanden sich jedoch nur noch Staphylokokken, während die Pseudodiphtheriebacillen aus der Nase verschwanden, ebenso die echten Diphtheriebacillen aus dem Rachen.

#### 10) Akuter Gelenkrheumatismus. 8 Fälle.

In allen 8 Fällen mehr oder weniger starke katarhalische Entzündung der Nasenschleimhaut, besonders am Vestibulum septi narium.

Der mikroskopische Ausstrich war 5mal steril, 1mal fanden sich Friedländer-ähnliche Stäbchen, die sich auch kulturell bestätigten, 1mal Diplokokken und einzelne Kokken, 1mal schlanke Stäbchen. In allen 8 Fällen wuchsen kulturell in erster Linie Staphylokokken und zwar 4mal in Reinkultur, 2mal in Gesellschaft von Friedländer, 1mal von nicht näher festgestellten Stäbchen und 1mal neben Diplokokken, teilweise mit Kettenbildung.

In dieser Gruppe fällt im Gegensatz zu dem in den anderen Gruppen im Vordergrund stehenden Diplococcus das Vorherrschen des Staphylococcus albus auf. Das Wachstum auf den Platten war ein spärliches.

(Forts. folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## „Spirochaete pallida“ und Osteochondritis<sup>1)</sup>.

[Hygienisches Institut der Kgl. Universität Turin. Direktor:  
Prof. Dr. L. Pagliani.]

Von Privatdozent Dr. E. Bertarelli, Assistent.

Mit 1 Tafel.

Das anatomisch-pathologische Studium der Läsionen der erblichen Syphilis in Zusammenhang mit der Spirochäte Schaudinns und Hoffmanns ist rasch zu Ende geführt worden, nachdem das Silbernitrat-Imprägnationsverfahren es gestattet hat, den verschiedenen und interessanten Lokalisationen des Erregers der Syphilis zu folgen.

Hierüber ist eine lange Reihe von Arbeiten entstanden, von dem ersten Berichte Volpinos und Bertarellis bis zu der umfassenden und wichtigen Arbeit Levaditis, die erschienen ist, während ich diese Arbeit beendete. Nur noch wenige der Läsionen der erblichen Syphilis bleiben noch zu untersuchen, teils weil das betreffende Material nicht leicht zu haben ist, teils auch, weil bei ihnen die Imprägnation in Silbernitrat weniger gut gelingt.

Unter diesen Läsionen der erblichen Syphilis ist eine der interessanteren die Osteochondritis, der sich die Aufmerksamkeit der Forscher noch nicht zugewandt hatte, die nach meinen Arbeiten und denen Volpinos, die Lokalisation der Spirochäte in den Schnitten verfolgt haben.

Dank dem wohlwollenden Entgegenkommen des Herrn Prof. Langhans und des Herrn Dr. Hedinger vom anatomisch-pathologischen Institut in Bern, vermochte ich eine schöne Reihe von Organen syphilitischer Früchte zusammenzubekommen, die verschiedene Zeit lang aufbewahrt worden waren und sich in einem zur Prüfung geeigneten Zustand befanden.

Unter diesem Material befanden sich auch 4 Fälle von syphilitischer Osteochondritis, und zwar in Früchten verschiedenen Alters. Leider habe ich über die Früchte selbst nur wenige Angaben erhalten, denn die jedes Stück begleitenden Daten und Nummern waren durch den die Stücke (teilweise schon in Celloidin gefaßt) umgebenden Aether derart verdorben, daß ihre Lesung unmöglich war, was aber nicht zu verhindern vermochte, daß die Prüfung ziemlich gut gelang. Aus dem Verknöcherungszustand der verschiedenen Knochen (es handelte sich dabei hauptsächlich um längs des Maximaldiameters ausgeschnittene Oberschenkelbeinstücke und um Bruchstücke anderer nicht bestimmter Knochen) konnte man mit Wahrscheinlichkeitsberechtigung auf das Alter der Früchte schließen, die das Prüfungsmaterial geliefert hatten.

Das ganze Material war in Formol oder Alkohol fixiert worden, 2 Stücke waren auch in Celloidin eingeschlossen, was vor allem die Loslösung des Celloidins erforderte. In 2 Fällen mußten die Stücke auch entkalkt werden (Salpetersäure 1,5-proz.).

Zur Imprägnation habe ich das von Volpino und mir gelegentlich unserer Nachforschungen über primäre, sekundäre und tertiäre syphi-

---

1) Bericht an die R. Accad. di Medicina in Turin mit Vorlage von Präparaten. 16. Febr. 1906.

litische Erscheinungen<sup>1)</sup> vorgeschlagene Verfahren angewandt, d. h. die Imprägnation in einer hydroalkoholisch-sauren Silbernitratlösung. Bei 4 Versuchen gelang diese Imprägnation 3mal vollständig, trotz der Eigenart des Gewebes und der verschiedenartigen Behandlung, der die Stücke ausgesetzt werden mußten; die erhaltenen Präparate waren vorzüglich.

Ich habe auch verschiedentlich eine Aenderung im Verfahren eintreten lassen und es auch mit dem von Levaditi und Manouelian angeratenen Pyridin versucht, doch muß ich bekennen, daß, wie mich dieses Pyridin schon bei den sekundären Läsionen (nach dem bekannten Verfahren Donaggios für die Nervenfibrillen) zu keinem Erfolg führte, es auch bei dieser Imprägnation in Nitrat und gleichzeitiger Beizung in Pyridin mir Präparate lieferte, die lange nicht so deutlich und veranschaulichend waren, wie die mit oben angeführten und von mir und Volpino vorgeschlagenen Verfahren erhaltenen.

In den 3 Fällen mit positivem Prüfungsergebnis konnte ich nun folgendes feststellen.

### I. Fall.

Oberschenkelbeinschnitt mit Diagnose auf syphilitische Osteochondritis (1904).

Das Oberschenkelbein hat kaum die Verknöcherung begonnen. Die Frucht muß also wohl ungefähr 7 Monate alt sein.

Auf dem Schnitt des Knochens sieht man makroskopisch schon deutlich die eigentümliche, unregelmäßige, zackige Verknöcherungslinie, die den ersten Stadien der syphilitischen Osteochondritis eigentümlich ist.

Bei Prüfung mit dem Mikroskop nimmt man in den Verknöcherungszonen unregelmäßige Markzonen wahr mit Resten von Knorpelkapseln.

In Bezug auf die Gegenwart der Spirochäten konnte ich nachfolgendes beobachten.

Vor allem im Periost und besonders in der ganzen an den Knochenanwuchs stoßenden Gegend viele typische Spirochäten. Dieselben sind nicht gleichmäßig verteilt. An einigen Stellen finden sich deren viele, an anderen wieder nur wenige. Immer spärlicher aber werden sie, je weiter man sich von der Gegend des Knochenanwuchses entfernt.

Fast immer liegen sie isoliert, selten nur werden kleine Büschel oder Gruppen von 2—3 Stück wahrgenommen. Meistens liegen sie längs der Richtung der Maximalachse des Knochens, also parallel zu den Bindegewebsbündeln, innerhalb deren sie sich vorfinden.

Endocelluläre Formen zeigen sich nicht. Alle Spirochäten sind zwischen den Bindegewebsbündeln eingelagert. Einige Spirochäten sind sehr lang, ein Teil derselben hat zugespitzte Enden, andere weisen an einem oder an beiden Enden einen deutlichen Kopf auf. Auch fehlen die gewundenen und verschlungenen Formen nicht, doch sind sie in der Knochenhaut äußerst spärlich.

Ziemlich interessant sind die morphologischen Einzelheiten dieser Spirochäten. Außer den gewöhnlichen Formen mit dichten, deutlichen Windungen sieht man auch fast gerade.

Nicht selten ist die Spirochäte dann auch derart gerade, daß man wohl auf den ersten Blick glauben muß, Opfer eines Irrtums geworden zu sein. Beobachtet man aber genauer und sieht man dann die verschiedensten Uebergangsformen von der typischen, spiralförmigen bis zur geradlinigen, so fällt jeder noch bestehende Zweifel. Es tritt da

1) Centralbl. f. Bakt., Abt. I. 1906.

der Gedanke nahe, ob nicht der Druck der Bindegewebsbündel so direkt auf die Spirochäten einwirke, daß sie dadurch zusammengedrückt werde, wodurch dann die Windungen gerade werden. In der Tat sind fast immer diejenigen Spirochäten geradlinig, die im Beobachtungsfall parallel zu den Bindegewebsfibrillen stehen, während die transversal zu den Bindegewebsfibrillen liegenden Spirochäten deutliche Windungen aufweisen. Auch die Enden der Spirochäten haben ganz verschiedene Form. Zuweilen sieht man da einen ganz anders gebildeten Endkörper, zuweilen eine einfache Anschwellung, nicht selten aber bemerkt man auch Formen, die eine gewisse Aehnlichkeit haben mit denen, die kürzlich Herxheimer beschrieb, als er von den Nachtformen der Spirochäten sprach. Außer diesen finden sich in meinen Präparaten aber auch eine ganze Reihe Uebergangsgebilde, die wirklich höchst belehrend sind.

Nicht weniger zahlreich sind die Spirochäten im Knochenmark. Es finden sich deren 2—3 in allen Schnittfeldern vor, und sehen wie gewöhnlich aus. Sehr lange bemerkt man daneben zerstückelte mit zugespitzten Enden und kopfförmige. Manche sind auch endocellulär. So sieht man sie nicht selten in den großen einkernigen Zellen, wahrscheinlich infolge passiven Eindringens.

Der Verknöcherungsschicht zu trifft man die Spirochäten zahlreicher an, selbst bis zu den äußersten Grenzen, an die das Mark hingelangt, finden auch sie sich vor. Ebenso werden sie wahrgenommen in den in Umwandlung befindlichen Knorpelkapseln in der Verknöcherungsschicht. Zuweilen findet man sie dann nicht allein in der Kapsel selbst vor, sondern auch im Grundgewebe.

Sogar in den Trabeculae osseae kommen an einigen Stellen schlecht schwarz gefärbte, zuweilen zerstückelte Spirochäten vor, die dahin natürlich vor der Verknöcherung gelangt sind.

Ein Hinneigen zum Bruche gibt sich übrigens auch bei den Spirochäten des Knochenmarks kund, womit jedoch nicht gesagt sein will, daß sich daselbst nicht auch viele ganz wohlerhaltene Formen vorfinden lassen.

In den eigentlichen knorpeligen Teilen verschwinden die Spirochäten vollständig.

Das Bild der Veränderungen spricht also, was die Spirochäten anbelangt, wirklich für einen von den Spirochäten hervorgerufenen osteomyelitischen Krankheitsvorgang, während die Fülle der Spirochäten im Periost die Periostitis rechtfertigt, die zuweilen zusammen mit syphilitischer Osteochondritis beobachtet wird.

## II. Fall.

Es handelt sich um einen auf dem Wege der Verknöcherung sich befindlichen Oberschenkelknochen, welcher bereits ziemlich vorgeschritten ist. Aller Wahrscheinlichkeit nach hatte die Frucht mindestens 8 Monate uterinen Lebens hinter sich.

Die Merkmale der Osteochondritis sind sehr deutlich. Die unregelmäßige Verknöcherungslinie liegt ziemlich klar zu Tage, nur ist die Verknöcherungszone stark ausgedehnt. Es muß sich also da wohl um eine Osteochondritis im zweiten Stadium, oder aber um eine zwischen dem zweiten und dritten Stadium stehende handeln.

Die Spirochäten sind nicht so zahlreich wie beim ersten Falle, sowohl im Periost wie auch im Marke.

In letzterem sind besonders gegen die Verknöcherungszone zu die schlecht gefärbten, zerstückelten Formen zahlreich. Daß das Brechen der Formen der Imprägnation zuzuschreiben sei, kann ausgeschlossen werden, da häufig isolierte und sich von der Umgebung deutlich unterscheidende Fragmente angetroffen werden, die somit vorstehendes Urteil bekräftigen. Auch bei diesem Falle lassen sich in den Knorpelkapseln, die sich auf dem Wege der Umwandlung befinden, nur selten Spirochätenformen wahrnehmen, doch sind sie bedeutend seltener und mehr zerstückelt, als dies im ersten Falle zu beobachten war.

### III. Fall.

Bruchstück eines langen, nicht erkannten, deutlich verknöcherten Knochens einer wahrscheinlich ausgetragenen Frucht. Es fehlt der epiphysäre Teil des Knochens.

Im Periost beobachtet man seltene Spirochätenformen, die weniger leicht färbbar sind als beim I. Falle.

Sehr selten sind sie im Zentralteil des Knochensplitters und in der geringen Menge Mark, die man in den Schnitten beobachten konnte. Fast alle an und für sich seltenen Spirochäten sind gebrochen.

Aus diesen Feststellungen ergibt sich also, daß bei der syphilitischen Osteochondritis die Spirochäten sich vorfinden und zwar im Periost und dem Marke und ganz besonders in der epiphysären Zone. Der spezifische Krankheitserreger findet sich da in großer Anzahl, dringt in die ganze Verknöcherungszone ein und erzeugt Verletzungen, die bei dieser syphilitischen Krankheitsform angetroffen zu werden pflegen.

Mit dem Fortschreiten des Verknöcherungsprozesses können die Spirochäten auch in die verknöcherten Teile eingeschlossen werden, brechen dabei und werden bei vollständiger Verknöcherung bis zum Verschwinden zerstückelt.

Auch im Periost erzeugt ihr Vorhandensein in großer Fülle Periostitiden, die zuweilen neben der Osteochondritis einhergehen und derart heftig auftreten können, daß durch sie irritative Knochenneubildungen bewirkt werden.

Im Periost können sich dann die Spirochäten unter dem Einflusse des Druckes den Bindegewebsbüschelchen anpassen, verändern dabei jedoch ihre Windungen und werden in typischer Weise fast geradlinig oder vollauf geradlinig.

Mögen die Spirochäten nun ihren Einfluß ausüben wie sie wollen, indem sie direkt die Tätigkeit der Osteoblasten beeinträchtigen, oder aber ihre Funktion schädigen durch Erzeugung toxischen Materials, das vielleicht auch aus dem Körper der Spirochäten selbst kommen kann, wenn er zerfällt, so erklärt das Vorhandensein dieser Elemente vortrefflich und unzweideutig das Entstehen der Osteochondritis und der nicht selten mit ihr zusammenfallenden Periostitis, die bei erblicher Syphilis beobachtet werden.

### Erklärung der Tafel.

Fig. 1. Spirochäten im Periost bei der Epiphysis.

Fig. 2. Spirochäten im Mark bei der Verknöcherungsschicht.

Obj. Apochr. Zeiss, 2 mm Okul. 8 Komp.

Fig. 1.

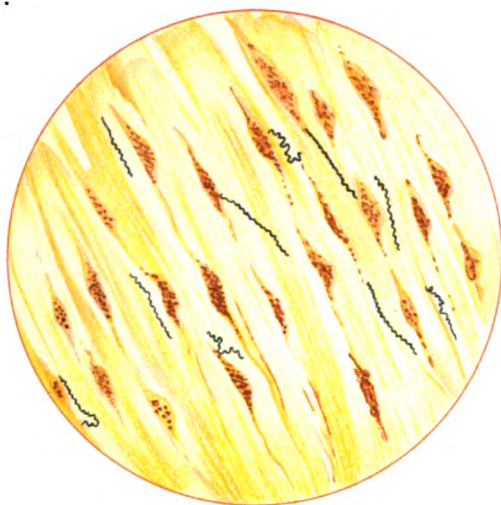
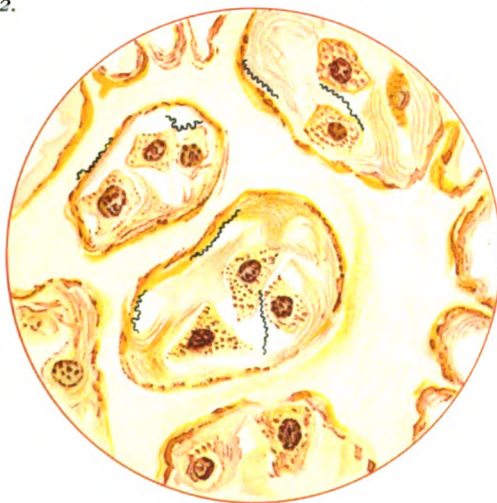


Fig. 2.





*Nachdruck verboten.*

## Notes de Parasitologie.

[Institut d'Hygiène et de Parasitologie de l'Université de Lausanne.]

Par **Bruno Galli-Valerio.**

Avec 3 figures.

### A. Parasites végétaux.

#### 1. Abscès déterminés chez les lapins par l'association de *B. vulgare* et *B. coli*.

Chez deux jeunes lapins de l'Institut d'Hygiène se sont développées, sous la branche horizontale gauche du maxillaire inférieur, des tuméfactions de la dimension d'une grosse noix, à surface bosselée, tuméfactions qui ont entraîné une gêne de la mastication et de la déglutition et par conséquent la mort des deux animaux atteints.

À l'autopsie on constatait que les deux tuméfactions n'étaient autre chose que des abscesses partagés en loges contenant un pus jaunâtre, très épais, dégageant une odeur fétide. À l'examen microscopique à frais on trouvait au milieu des globules du pus, un grand nombre de bactériens en forme de bâtonnets ou de courts filaments, à extrémités arrondies; les uns, les plus longs surtout, très mobiles, les autres moins mobiles. Ils se coloraient uniformément par la fuchsine de Ziehl et par le bleu de méthylène, mais ils ne se coloraient pas par la méthode de Gram.

Les cultures ont permis d'isoler de ces abscesses deux bactéries: L'une présentait tous les caractères de *B. vulgare*, à cultures dégageant une forte odeur de putréfaction. L'autre présentait tous les caractères de *B. coli*.

Quelques expériences d'inoculation faites soit directement avec le pus des abscesses, soit avec les cultures, ont donné les résultats suivants:

Un jeune lapin inoculé sous la branche horizontale gauche du maxillaire inférieur avec une petite quantité de pus pris dans l'abcès d'un des lapins spontanément atteints, a présenté un abcès qui a atteint la dimension d'un œuf de poule, plein d'un pus épais jaunâtre, et est mort après 9 jours. Les deux bactéries indiquées se trouvaient dans le pus de cet abcès, mais elles manquaient dans le sang.

Un lapin adulte inoculé sous la peau de la cuisse gauche avec  $\frac{1}{2}$  c. c. d'une culture en bouillon de *B. vulgare*; à la cuisse droite avec  $\frac{1}{2}$  c. c. d'une culture en bouillon de *B. coli*, et à la région abdominale avec  $\frac{1}{2}$  c. c. d'un mélange à parties égales de ces 2 cultures, a présenté exclusivement une lésion à la région abdominale, sous forme d'une tuméfaction rouge qu'en 3 jours a atteint la dimension d'une grosse noix et s'est ouverte au 14<sup>e</sup> jour en donnant un pus épais, jaunâtre et fétide, contenant les deux bactéries décrites. L'animal a guéri, ne présentant absolument aucune lésion aux points inoculés avec *B. vulgare* et *B. coli* séparément.

Un jeune lapin inoculé sous la branche horizontale gauche du maxillaire inférieur avec  $\frac{1}{2}$  c. c. d'un mélange à parties égales d'une culture de *B. vulgare* et de *B. coli* a présenté au point inoculé une tuméfaction qui a atteint la dimension d'une noix, s'est ouverte donnant issue à un pus épais, jaunâtre et fétide contenant les deux bactéries; l'animal a guéri.



Un cobaye inoculé sous la branche horizontale gauche du maxillaire inférieur comme le lapin précédent, n'a présenté qu'une tuméfaction rouge comme une noisette, qui a disparu après quelques jours sans s'ouvrir.

Un *Mus rattus* inoculé sous la peau de la cuisse gauche avec  $\frac{1}{2}$  c. c. du même mélange n'a présenté absolument aucun trouble morbide appréciable.

Ces quelques expériences démontrent que chez le lapin on peut observer des abcès qui sont sous la dépendance d'une association microbienne de *B. vulgare* et de *B. coli*. Tandis qu'associées ces bactéries déterminent de gros abcès, inocuées isolément, elles ne semblent pas exercer d'action pathogène. Leur association est surtout pathogène pour le lapin, moins pour le cobaye et pas du tout pour *Mus rattus*.

## 2. Sur une infection à type dysentérique due à un *B. coli*.

Il s'agit d'un enfant âgé de 13 mois, hospitalisé à l'hôpital cantonal de Lausanne (service de M. le Prof. Combe), ayant présenté des selles glaireuses contenant du sang, de la fièvre jusqu'à 39°, et qui est mort après 3 semaines, présentant une hyperémie de l'intestin mais non de grandes ulcérations, comme on remarque d'ordinaire dans la dysentérie, et en même temps un épanchement hémorragique de la plèvre.

Chez cet enfant qui avait été infecté par deux autres enfants âgés de 13 et  $1\frac{1}{2}$  ans, provenant d'Odessa et qui avaient guéri, j'ai trouvé, pendant la vie, dans les mucosités sanguinolentes de l'intestin, et après la mort, dans le cœur et dans l'épanchement sanguinolent de la cavité pleurale, un *B. coli* très virulent du type *B. coli dysentericum* que Celli et moi avons signalé dans des épidémies de dysentérie en Italie<sup>1)</sup>.

Ce bacille était peu mobile, et par le procédé de Pitfield j'ai pu mettre en évidence que 1—2 cils courts. Il était fortement agglutiné à 1:50, faiblement à 1:100 par la sérum de l'enfant chez lequel il avait été isolé.

Par inoculation souscutanée de  $\frac{1}{2}$  c. c. à la cuisse d'un cobaye il a déterminé une tuméfaction très forte de la cuisse avec formation d'un abcès, et diarrhée. L'animal s'est ensuite rétabli.

Par inoculation d' $\frac{1}{4}$  c. c. d'une culture en bouillon dans la cavité abdominale d'un cobaye, il a déterminé l'élimination de matières liquides mélangées à du sang; mort après 24 heures. L'animal a présenté à l'autopsie: Cavité abdominale remplie d'exsudat contenant une quantité énorme de *B. coli* libres ou phagocytés. Hyperémie très forte avec ecchymoses de tout le péritoine. Très forte hyperémie de l'intestin, surtout de l'intestin grêle. Tuméfaction de la rate. Les cultures de l'exsudat péritonéal et du sang du cœur ont donné une bactérie identique à celle isolée chez l'enfant dysentérique.

Je me suis demandé si dans ce cas qui a présenté les caractères d'une forme dysentérique, sauf les lésions intestinales que d'ordinaire on trouve dans cette maladie, *B. dysenteriae* avait pu m'échapper. L'examen des très nombreuses colonies développées sur les plaques faites avec les mucosités intestinales et avec le sang du cœur ne m'a pas permis de constater une seule colonie présentant les caractères de *B.*

1) Annali d'Igiene sperimentale. 1896. p. 203; Centralbl. f. Bakt. Bd. XX. 1896. p. 901; Rivista della R. Soc. italiana d'Igiene. 1897. No. 2, 3, 4.

dysenteriae qui se développe pourtant avec la plus grande facilité. Les mucosités intestinales venant d'être évacuées, on ne peut pas supposer que *B. dysenteriae* ait été étouffé par *B. coli*. Le fait que le sérum du sang de l'enfant dysentérique a agglutiné fortement le *B. coli* isolé par moi parle aussi en faveur de l'idée que le bacille que j'ai isolé était bien la cause de ce cas d'infection à type dysentérique.

J'ai traité avec ce même sérum une culture du bacille que j'avais isolé l'année dernière d'un cas de dysentérie en Valteline<sup>1)</sup>, bacille qui se rapprochait beaucoup plus de *B. dysenteriae* surtout du type Flexner, et de *B. faecalis alcaligenes*, que de *B. coli*. Mais l'agglutination n'a pas été caractéristique: à 1:50 je n'ai eu que la formation de quelques amas de bacilles agglutinés. Je ne possédais plus de *B. dysenteriae* de Shiga pour pratiquer une recherche analogue.

Le cas que je viens de décrire me semble parler en faveur de l'idée que, à côté de formes de dysentérie sévissant à l'état épidémique et dues à *B. dysenteriae* typique, il existe des formes dues à des variétés ou à des espèces, intermédiaires entre ce bacille et *B. coli*, qui déterminent des formes très analogues à celle dues à *B. dysenteriae*, et qui peuvent donner lieu à des épidémies. Telle me semble aussi être l'idée de Charlton et Jehle<sup>2)</sup>, dans leur étude sur l'étiologie de la dysentérie.

### 3. Sur une bactérie isolée dans un cas de rhinosclérome.

Le rhinosclérome a été signalé jusqu'à maintenant 14 fois en Suisse où il semble surtout exister dans le Canton du Valais<sup>3)</sup> mais on n'y a pas fait de recherches sur les caractères de *B. rhinoscleromatis*. Grâce à l'obligeance de M. le Prof. Mermod, directeur de la clinique oto-rhinolaryngologique de Lausanne, j'ai pu examiner des morceaux d'un rhinosclérome provenant d'un homme de 55 ans venant de Bagnes (Canton du Valais).

À l'examen direct des frottis de ces morceaux on remarquait la présence de bâtonnets de  $\mu$  0,6—1,5, à extrémités arrondies, disposés souvent par deux bout à bout, libres ou contenus dans de grosses cellules arrondies. Ils se coloraient bien par la fuchsine et par le bleu de méthylène et présentaient une capsule peu distincte. Ils ne se coloraient pas par la méthode de Gram. Dans les coupes colorées par le bleu de méthylène au thymol et par Methylgrün-Pyronine de Pappenheim on avait beaucoup de peine à les colorer. On en trouvait par ci par là de petits amas dans des cellules.

Des cultures faites sur plaques d'agar ont permis d'isoler le bacille, qui a présenté les caractères suivants.

Sur plaques d'agar à 37°: colonies blanchâtres rondes à contours nets, surélevés sur la surface de l'agar.

En agar par piqûre à 37°: Colonie blanchâtre luisante, surélevée, en surface et mince ligne granuleuse en profondeur.

En gélatine par piqûre à 20°: Colonie blanchâtre en tête d'épingle en surface, et ligne festonnée dans la profondeur. Point de liquéfaction.

1) Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XXXIX. p. 230.

2) Studies from the Rockefeller Institute for medical Researches. Vol. III. 1905.

3) B. Roudaeff, Contribution à l'étude du Rhinosclérome en Suisse. Thèse de Lausanne. 1905.

En bouillon peptonisé à 37°: Trouble général, dépôt blanchâtre au fond, point de voile.

Sur sérum de bœuf gélatinisé à 37°: Couche blanchâtre assez épaisse.

Sur pomme de terre et sur carotte cuite à 37°: Couche mince blanchâtre, luisante. Pas de coagulation du lait, pas d'indol, légère fermentation du lactose et du glycose. Dans toutes ces cultures, le bacille présentait les caractères indiqués à propos de l'examen direct, mais il avait la tendance à s'allonger sur pomme de terre et sur carotte et à donner des formes très courtes, ovoïdes dans le lait. Dans les cultures, il ne présentait pas de capsule.

Des inoculations sous-cutanées faites avec des cultures en bouillon sur lapin et cobaye ( $\frac{1}{2}$  c. c.), Mus rattus et souris blanche ( $\frac{1}{4}$  c. c.) ont été absolument négatives. L'inoculation de quelques gouttes de culture sous la muqueuse du nez d'un rat blanc n'a pas non plus donné de résultats.

Cette bactérie correspond bien à *B. rhinosleromatis* et elle ne me semble pas différer, sinon dans la non-pathogénité pour la souris, de *B. pneumoniae*, dont la virulence est du reste extrêmement variable.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

## Ueber einen neuen, beim Gibbon gefundenen *Strongylus* (*Strongylus ovatus* v. Linstow).

Von Dr. Henry Smidt in Hamburg.

Mit 4 Figuren.

Gelegentlich der experimentellen Untersuchungen über die Empfänglichkeit anthropoider Affen gegenüber den Tuberkelbacillen des Menschen und des Rindes, die Prof. Freiherr v. Dungern und ich im Frühjahr 1905 in Palembang auf Sumatra ausgeführt haben <sup>1)</sup>, fand sich unter etwa 40 zur Sektion gelangten Gibbons (*Hylobates syndactylus* und *agilis*) bei mehreren eine schwere Affektion des Dickdarms, die, wie die weitere Untersuchung ergeben hat, durch einen zum *Genus Strongylus* gehörigen Rundwurm verursacht war.

Diese Fälle zeigten folgenden übereinstimmenden Sektionsbefund:

Der Dickdarm ist besonders im Bereiche des Coecums auffallend weit und stark aufgebläht, während Magen und Dünndarm, entsprechend der Nahrungsverweigerung in den letzten Lebenstagen, leer und kollabiert sind. Die glanzlose und injizierte Serosa des Coecums ist stellenweise mit dem Peritoneum parietale der vorderen Bauchwand und benachbarten Dünndarmschlingen verklebt, manchmal (in älteren Fällen) auch mit diesen strangförmig verwachsen. Freie Flüssigkeit findet sich in der Bauchhöhle nicht. In der Wand des Dickdarms sieht man manchmal bis herab ins Rectum, stets aber am dichtesten im Coecum, knotenförmige Einlagerungen von Hirsekorn- bis Erbsengröße und schieferiger oder schmutzig braunroter Farbe. Durch mehr oder weniger starke

1) v. Dungern u. Smidt, Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. XXIII. 1906. H. 2.

Vortreibung der Serosa bilden sie bald flache, linsenförmige Buckel oder halbkugelige Ausbuchtungen, bald beerenförmige, gestielte Anhänge der Darmwand. Schneidet man auf sie ein, so eröffnet man eine kleine Höhle, in der in einem mißfarbenen, eingedickten Blutcoagulum jeweils ein ca. 1 cm langer Wurm spiralig aufgerollt liegt.

Auf der Innenseite des Darms imponieren die Knoten als im ganzen weniger stark hervortretende, linsengroße Buckel unter der Schleimhaut, über denen diese meist entzündlich infiltriert und teilweise zerstört ist; bei einzelnen ist auf der Höhe eine kleine Ekchymose und entsprechend der Eintrittsstelle des Wurmes eine mit Lupenvergrößerung eben sichtbare punktförmige Oeffnung erkennbar.

Die Mesenterialdrüsen sind regelmäßig vergrößert und meist hämorrhagisch verfärbt.

In einem Falle fanden sich bei der späteren histologischen Untersuchung der inneren Organe auch in den Mesenterialdrüsen, der Leber und der Lunge eingelagerte Würmer.

Die mikroskopische Betrachtung der durch die Knoten der Darmwand gelegten Schnitte läßt eine meist in der Submucosa, seltener in der Muscularis oder Serosa gelegene, manchmal mehrere dieser Schichten durchsetzende Höhle erkennen, die mit einem aus größtenteils zerfallenen roten Blutkörperchen, Pigment und mehr oder weniger zahlreichen Leukocyten bestehenden Gerinnsel ausgefüllt ist. In diesem liegen die wegen ihrer spiraligen Form oft mehrfach durchschnittenen Larven. In der Umgebung eines solchen Herdes ist das durch ihn auseinandergedrängte Gewebe kleinzellig infiltriert; diese entzündliche Reaktion ist am ausgesprochensten an den benachbarten Partien der Schleimhaut vorhanden, an der es um so mehr zu einem Schwunde der drüsigen Elemente gekommen ist, je dichter unter ihr der Wurm liegen geblieben war.

Ähnliche Veränderungen rufen die Rundwürmer auch in anderen Organen, in die sie verschleppt werden, hervor. Es kommt auch hier zu einer Blutung mit nachträglicher Einwanderung von Leukocyten und reaktiver Entzündung in der Umgebung, die schließlich zur Bildung einer bindegewebigen Kapsel führen kann.

Das ganze Krankheitsbild erinnert lebhaft an Erscheinungen, wie sie bei unseren Haustieren als Folge der Einwanderung von *Strongylus*-Larven häufig beobachtet werden. Besonders ähnlich scheinen die Verhältnisse bei der durch den *Strongylus armatus* hervorgerufenen Erkrankung der Pferde zu liegen, bei der, wie aus den eingehenden Untersuchungen von Olt hervorgeht<sup>1)</sup>, die Larve sich zunächst aktiv bis in die Submucosa des Dickdarmes einbohrt; hier bleibt sie in den oben beschriebenen analogen Knoten so lange liegen, bis sie, geschlechtsreif geworden, in den Darm zurückwandert. Gelangt sie in der Submucosa zufällig in eine Vene, so kann sie auf dem Wege der Pfortader in Leber und Lunge und von da weiter in die Organe des großen Kreislaufes verschleppt werden.

Ähnliche Wanderungen durch den Körper sind bei einer ganzen Reihe anderer, zu den Strongyliden gehörender Nematoden beobachtet worden. So finden sich unter anderen die Larven von *Ankylostomum radiatum* Rud. in Knötchen der Darmwand des Rindes<sup>2)</sup>; die Larve von *Oesophagostomum columbianum* Curtice erzeugt das nodular disease des

1) Olt, Deutsche tierärztliche Wochenschr. 1900. No. 43—45.

2) Scheben, Fortschritte der Veterinär-Hygiene 1905. p. 1—12.

Darmes bei Schafen und Rindern in Nordamerika <sup>1)</sup>, *Oesophagostomum dentatum* Rud. (= *Oes. folliculare* Olt) ist die Ursache der mit Knötchenbildung einhergehenden Follikulärerkrankung im Darne des Schweines <sup>2)</sup>, *Sclerostomum dentatum* Looss und *Scl. vulgare* Looss wurden in dem Peritoneum und der Pleura bezw. in den Gefäßen und Lymphdrüsen des Pferdes gefunden <sup>3)</sup>. Auch beim Menschen verursacht ja die Larve des *Ankylostomum duodenale* mitunter in der Darmschleimhaut kleine, mit Blut gefüllte Höhlen. Wir finden es also bei Strongyliden häufig, daß der Larvenzustand in der Darmwand oder in den inneren Organen desselben Tieres verbracht wird, dessen Darm der Nematode als Geschlechtsform bewohnt.

Es hat sich nun auch für den Parasiten des *Hylobates* ergeben, daß es sich um einen Nematoden handelt, der den Strongyliden zuzurechnen ist. Auf meine Bitte hatte Herr Dr. v. Linstow, Generaloberarzt a. D. in Göttingen, die Liebenswürdigkeit, diesen genau zu untersuchen und zu bestimmen, wofür ich ihm auch an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank aussprechen möchte. Im folgenden gebe ich seine mir gütigst zur Verfügung gestellten Angaben wieder:

Bei den in der Darmwand sitzenden Exemplaren handelt es sich um Larven, an denen nur die äußeren männlichen Organe, die Bursa mit den Rippen und die Spicula entwickelt sind. Am Kopfende steht eine turbanartige Verdickung mit 4 gestielten Papillen, 2 medianen und 2 lateralen; an diese schließt sich eine blasige Auftreibung der Cuticula, die bis 0,32 mm nach hinten reicht; die Cuticula ist in Abständen von 0,016 mm quer geringelt, der kurze Oesophagus flaschenförmig und nach hinten verdickt (Fig. 1). Die männliche Larve ist durchschnittlich 13 mm lang und 0,6 mm breit, der Oesophagus mißt  $\frac{1}{17}$  der Gesamtlänge, die

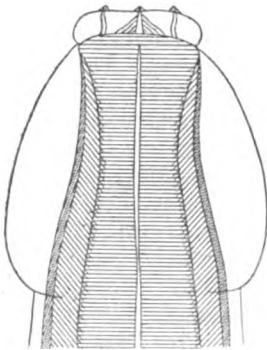


Fig. 1.

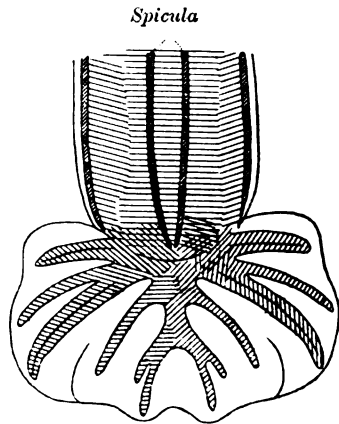


Fig. 2.

Fig. 1. Kopfende mit der papillenträgenden Mundkapsel und der eiförmigen Anschwellung der Cuticula. Im Inneren der Anfangsteil des flaschenförmigen Oesophagus.

Fig. 2. Männliches Schwanzende mit den in ihre Cuticularscheide zurückgezogenen Spiculis und der schmetterlingsförmigen Bursa, die den Mittellappen und die symmetrisch angeordneten Rippen trägt.

1) Stiles, XVII. annual report Bureau of animal industry. Washington 1902. p. 362—363.

2) Seiler, Diss. Gießen. 1901; Olt, Zeitschr. für Fleisch- und Milchhygiene. 1897.

3) Railliet u. Henry, Compt. rend. soc. biol. Paris 1902. p. 5—7.

stabförmigen Spicula sind 1,19 mm lang. Die Bursa (Fig. 2) besitzt jederseits 3 Rippen, von denen die 1. und 3. doppelt sind; der Mittellappen zeigt jederseits 2 Rippen, deren hintere sich in einen kürzeren inneren und längeren äußeren Ast gabelt.

Bei einer weiblichen Larve fanden sich folgende Maße: Länge 14,61 mm, Breite 0,70 mm, Oesophagus  $\frac{1}{18}$ , das konisch verjüngte Schwanzende  $\frac{1}{37}$  der Gesamtlänge. Geschlechtsorgane sind bei dieser noch nicht entwickelt.

Die zugehörigen freilebenden Geschlechtsformen fanden sich neben anderen Nematoden im Darm als 1—2 cm lange, fadendünne Würmer in spärlicher Menge. Sie zeigen dieselbe Kopfform wie die Larve. Ihre Cuticula ist in Abständen von 0,021 mm quer geringelt, der Oesophagus mißt  $\frac{1}{12}$  der Gesamtlänge. Bei 3 gemessenen Exemplaren (1 Männchen und 2 Weibchen) ergaben sich weiter folgende Größenverhältnisse: Männchen, Länge: 11,1 mm, Breite: 0,53 mm; Weibchen, Länge: 8,7 bzw. 19,3 mm, Breite 0,43 bzw. 0,70 mm. Beim Weibchen läuft das  $\frac{1}{49}$  des Körpers messende Schwanzende fingerförmig aus; die Vulva liegt an der Grenze des 2. und 3. Drittels, also hinter der Körpermitte. Bei den untersuchten Exemplaren waren Eier noch nicht entwickelt.

Fig. 3 und 4 stellen (etwas schematisierte) Zeichnungen von Larvenquerschnitten dar. Erstere zeigt, unter Fortlassung von Cuticula und Hautmuskelschlauch, den quergetroffenen Oesophagus. Die Schleimhaut, aus einer einfachen Epithellage bestehend, erscheint in Form dreier von einem Punkt unter gleichem Winkel auseinandergehender Strahlen gefaltet; zwischen den radiär gestellten, stark pigmentierten Längsmuskeln liegen 3 längsovale Drüsen, die, wie aus anderen Präparaten hervorgeht, an den Spitzen der Winkel vorn in das Lumen einmünden. In Fig. 4 liegt der Schnitt durch die (weibliche) Larve hinter der Körpermitte. Unter der Cuticula sieht man die radiärgestellte Längsmuskulatur mit ihren wulstartig angeordneten Feldern von Marksubstanz. Unterbrochen wird sie durch



Fig. 3. Querschnitt durch den Oesophagus. *l* Längsmuskeln, *d* Drüsen.

je ein kleines Dorsal- und Ventralfeld und zwei breite Seitenfelder, in denen je ein Exkretionsgefäß verläuft. Auffallend sind die in der Hypodermis jederseits zwischen den vier Streben liegenden Kerne. In der Leibeshöhle sehen wir den querdurchschnittenen Darm und das wegen seiner schlingenförmigen Anordnung mehrfach getroffene Ovarium. Die Darmwand setzt sich zusammen aus einer mit einem feinen Häutchen umgebenen Hüllmembran, deren Kerne in fast mathematisch gleichen Abständen angeordnet sind, einer schmalen Ringmuskelschicht und einem einschichtigen Cylinderepithel. In den Ovarialschlingen finden sich reichliche Eianlagen.

Daß es sich bei unserem Wurm um einen *Strongylus* handelt, ergibt sich aus der beim Männchen vorhandenen, mit 2 Spiculis ausgerüsteten Bursa, jener aus flügelartigen Fortsätzen bestehenden Verbreiterung des hinteren Körperendes, und der Erweiterung des Anfangsdarmes zu einer mit Papillen versehenen Mundkapsel. Von den bisher bekannten Ver-

tretern dieser Gattung unterscheidet er sich jedoch durch die bei ihm vorhandene Kombination der geraden langen Spicula, der obenbeschriebenen Anordnung und Zahl der Bursarippen, der mit 4 gestielten Papillen versehenen Mundkapsel und der eigentümlichen eiförmigen Anschwellung der Cuticula am Kopfende. Nach dieser am meisten ins Auge springenden Besonderheit kann man ihn als *Strongylus ovatus* bezeichnen.

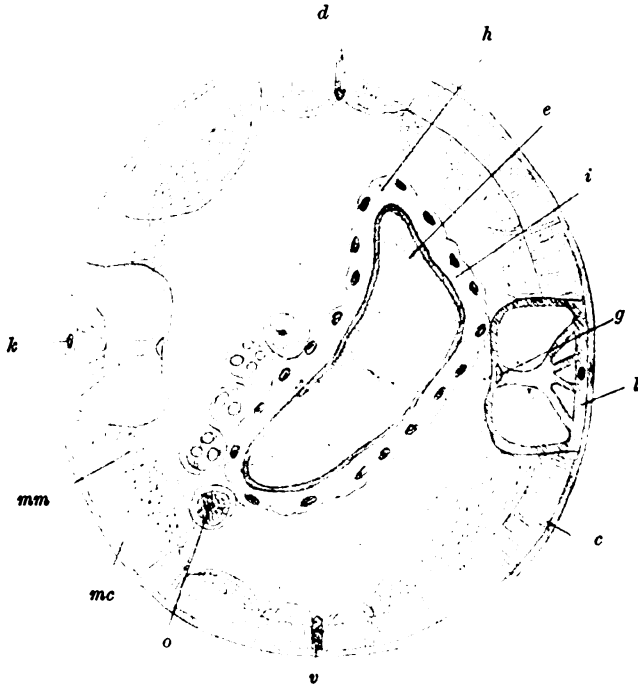


Fig. 4. Querschnitt durch eine Larve. *d* Dorsalfeld, *v* Ventralfeld, *l* Seitenfeld, *g* Gefäß, *k* Kern, *i* Darm, *h* dessen Hüllmembran, *e* Darmepithel, *c* Cuticula, *me* kontraktile Substanz des Hautmuskelschlauches, *mm* Marksubstanz des Hautmuskelschlauches, *o* Ovarium.

In welchen Punkten er sich speziell von den bei Affen bisher beschriebenen Strongyliden unterscheidet, geht aus folgender Zusammenstellung hervor, die ich gleichfalls der Liebenswürdigkeit des Herrn Dr. v. Linstow verdanke:

*Oesophagostomum dentatum* Rud.: jederseits 9 Rippen der Bursa. Mundende mit konvergierenden Borsten.

*Oesophagostomum pachycephalum* Molin: Kopfende mit kugelförmiger Anschwellung.

*Strongylus torulosus* Molin: Spicula kurz, hinten zweischenklig.

*Strongylus cesticillus* Molin: Spicula kurz, Bursa jederseits vier Rippen.

*Strongylus cynocephali* Molin: 2 breite Seitenmembranen am Kopf.

*Strongylus bifurcus* Cr  pl.: Mundöffnung mit 2 Papillen, Bursa mit 7 Rippen.

*Strongylus retortaeformis* Rud. = *instabilis* Railliet: Spicula kurz.

*Strongylus attenuatus* Leidy: Kopfende mit 2 Seitenmembranen, Bursa zweilappig, vielstrahlig.

*Strongylus hemicolor* Cobbold: unbeschrieben.

*Sclerostomum aculeatum* v. Linstow: Mundbecher.

Was nun den Entwicklungsgang unseres Parasiten anbelangt, so läßt sich aus den bei der Sektion erhobenen Befunden nur folgern, daß, während die Geschlechtsform im Darme frei lebt, die Larve sich in die Darmwand einbohrt, wo sie sich von dem Blute ihres Wirtes nährt (dieses findet sich stets in großer Menge in ihrem Darm), und gelegentlich in andere innere Organe verschleppt werden kann. Im übrigen wird man nach Analogie mit anderen Strongyliden als wahrscheinlich annehmen können, daß die mit dem Darminhalt entleerten Eier sich im Freien zu Larven entwickeln und mit der Nahrung wieder in den Darm anderer Affen gelangen; möglicherweise findet die Infektion auch durch die Haut statt, wie dies nach den Untersuchungen von Looss, Schaudinn u. a. bei *Ancylostomum duodenale* der Fall sein kann. Die Einwanderung in die Darmwand dient den Larven offenbar dazu, an geschützter Stelle und unter guten Ernährungsbedingungen liegend sich zu geschlechtsreifen Formen auszuwachsen; dann wandern sie in den Darm zurück, wo die Befruchtung und die Entwicklung der Eier stattfindet. Werden Larven in andere Organe verschleppt, so wird zwar auch hier eine Ausbildung zur Geschlechtsform möglich sein (wie dies für Larven des *Strongylus armatus* in den Aneurysmen der Mesenterialarterien des Pferdes nachgewiesen ist), aber ein weiterer Entwicklungsgang ist damit abgeschnitten.

Für das Wirtstier stellt eine solche Wurminfektion in jedem Falle eine schwere Erkrankung dar. Abgesehen von der durch die meist in großen Mengen vorhandenen Würmer bedingten Blutentziehung ruft das Einwandern der Larven in die Darmwand entzündliche Prozesse der Schleimhaut hervor und schafft Eintrittspforten für septische Erkrankungen, an denen nach unseren Beobachtungen die Gibbons auch sonst sehr häufig zu Grunde gehen. Gelegentlich kann natürlich auch die Verschleppung der Larven in lebenswichtige Organe dem Wirtstier gefährlich werden.

---

Nachdruck verboten.

## Weitere Untersuchungen über den Mechanismus der Agglutination und Präzipitation.

### II. Teil.

[Aus dem k. k. hygienischen Institut der Jagellonischen Universität Krakau.  
Vorstand Prof. O. Bujwid.]

Von Dr. **Philipp Eisenberg**, Assistenten am Institut.

(Fortsetzung.)

Während in diesem Versuch gleiche Mengen inaktivierten und aktiven Serums auf verschiedene Bakterienmengen einwirken, ist in den folgenden die Bakterienmenge konstant gehalten und es werden nur die quantitativen Verhältnisse beider Sera variiert, um ihren Einfluß auf den Hemmungseffekt zu beleuchten. Nehmen wir nun den einfachsten Fall, die gleichzeitige Einwirkung beider Sera auf die Bakterien. Wir haben zwei Reihen, in deren einer verschiedenen Mengen aktiven Serums eine 10mal kleinere Menge inaktivierten Serums gegenübersteht als in der anderen (Tab. LIV).



Tabelle LIV. (Prot. No. 19a. 15. Nov. 1903.)

Ser. vom Pf. No. 37. 7. Okt. 1903. 1 Std. auf 60—63° erh. Dasselbe nicht erhitzt.  
Dichte Agarauflschw. v. B. typhi Z. Beide Sera wirken gleichzeitig auf die Bakterien.

Tropfen				Resultat nach		
Erhitzt. Ser.	Akt. Ser.	Phys. NaCl	Bakt.- Aufschw.	2 Std.	4 Std.	24 Std.
4 = $\frac{1}{100}$	4 = $\frac{1}{600}$	28	4	k.	Sp.	st. Sp.
4 = $\frac{1}{100}$	5 = $\frac{1}{400}$	27	4	k.	st. Sp.	u. v.
4 = $\frac{1}{100}$	7 = $\frac{1}{300}$	25	4	st. Sp.	u. v.?	u. v.
4 = $\frac{1}{100}$	10 = $\frac{1}{200}$	22	4	st. Sp.	u. v.	f. v.
4 = $\frac{1}{100}$	13 = $\frac{1}{150}$	19	4	st. Sp.	u. v.	f. v.
4 = $\frac{1}{100}$	20 = $\frac{1}{100}$	12	4	u. v.	u. v.	f. v.
4 = $\frac{1}{10}$	4 = $\frac{1}{50}$	28	4	k.	k.	k.
4 = $\frac{1}{10}$	5 = $\frac{1}{40}$	27	4	k.	k.	k.
4 = $\frac{1}{10}$	7 = $\frac{1}{30}$	25	4	k.	k.	k.
4 = $\frac{1}{10}$	10 = $\frac{1}{20}$	22	4	k.	k.	k.
4 = $\frac{1}{10}$	13 = $\frac{1}{15}$	19	4	k.	k.	k.
4 = $\frac{1}{10}$	20 = $\frac{1}{10}$	12	4	k.	k.	Sp.
0	4 = $\frac{1}{600}$	32	4	f. v.	f. v.	v.
0	0	36	4	k.	k.	k.

Wir sehen, daß in einer der Verdünnung  $\frac{1}{100}$  entsprechenden Menge das erhitzte Serum nur teilweise Hemmung zu stande bringt, die proportionell dem steigenden Zusatz von aktivem Serum kleiner wird, daß dagegen bei größerer Menge eine vollkommene hoch hinaufreichende Hemmung erzielt wird. In den Proben der zweiten Reihe sind die Mengen beider Sera 10mal größer als in den entsprechenden Röhrchen der ersten — dort haben wir keine Agglutination, hier tritt sie in verschiedener Stärke auf. Wir haben hier einerseits eine Bestätigung der Rolle, die die Bakterienmenge bei der Hemmung spielt, denn das Resultat wäre in beiden Reihen identisch, wenn in der zweiten auch die Bakterienmenge entsprechend der Menge der Sera ums Zehnfache gesteigert wäre. Andererseits haben wir das Phänomen der Hemmungszone hier auf seine Komponenten zurückgeführt: die Proben der zweiten Reihe liegen innerhalb der Hemmungszone („Präzone“ von Buxton), die entsprechenden Proben der ersten Reihe innerhalb der aktiven Zone. Versuchen wir es nun, für diesen einfachsten Fall der gleichzeitigen Einwirkung beider Sera theoretisch die quantitativen Verhältnisse, innerhalb deren sich die Hemmungschancen bewegen, klarzulegen, indem wir vorderhand auf dem Boden der Proagglutinoïdtheorie bleiben, die bis jetzt am besten begründet erscheint. Um diese Ueberlegung zu vereinfachen, wollen wir bis auf weiteres annehmen, daß beim Inaktivieren das ganze Agglutinin in Proagglutinoïd übergeht (was wir natürlich nicht wissen können). Als Basis für unsere quantitativeren Berechnungen wollen wir die Absorptionsverhältnisse des Typhusperdeagglutinins nehmen, wie sie die Tabelle I von Eisenberg und Volk darstellt, die ich der Bequemlichkeit halber hier wiedergebe (Tab. LV). Nehmen wir weiter an, was vorläufig experimentell nicht festgestellt werden kann, daß die Absorptionsverhältnisse der Proagglutinoïde dieselben sind, wie die der aktiven Agglutinine, da diese Annahme die einfachste sein dürfte. Es wird nun die vollständige Hemmung durch Proagglutinoïde dann eintreten können, wenn das Agglutinin ganz ungebunden bleibt und nur das Proagglutinoïd zur Bindung gelangt.

Tabelle LV.

(Tab. I aus der Arb. von Eisenberg u. Volk. Ztschr. f. Hyg. Bd. XL. p. 157.)  
 Absorptionsverhältnisse des Zor.-Ser. I. Ag.-W. = 20 000 Ag.-E.

Serum- verdünnung	Dargereichte Agglu- tininmenge in Ag.-E.	Absolute Ab- sorption	Absorptions- koeffizient
$\frac{1}{10000}$	2	2	$\frac{20}{20}$
$\frac{1}{1000}$	20	20	$\frac{20}{20}$
$\frac{1}{500}$	40	40	$\frac{20}{20}$
$\frac{1}{300}$	67	67	$\frac{20}{20}$
$\frac{1}{100}$	200	180	$\frac{18}{20}$
$\frac{1}{50}$	400	340	$\frac{17}{20}$
$\frac{1}{10}$	2 000	1 500	$\frac{15}{20}$
$\frac{1}{2}$	10 000	6 500	$\frac{13}{20}$
$\frac{1}{1}$	20 000	11 000	$\frac{11}{20}$

Von der Gesamtmenge der Rezeptoren, die die Summe von Agglutinin und Proagglutinoid darstellt, wird ein gewisser, ihrer aktiven Masse entsprechender Teil (ausgedrückt durch den Absorptionskoeffizient gebunden. Daraus folgt, daß vollständige Hemmung dann eintreten kann, wenn der Bruch, der den Anteil von Proagglutinoid an der Summe von Proagglutinoid und Agglutinin ausdrückt, dem Absorptionskoeffizient für die gegebene Summe und Bakterienmenge gleichkommt oder größer ist, d. h. wenn derjenige Anteil der Mischung von Agglutinin und Proagglutinoid, der zur Bindung gelangt, vollständig durch das Proagglutinoid gedeckt werden kann. Wenn wir das mathematisch ausdrücken

wollen, so erhalten wir eine Hemmung, wenn  $\frac{p}{a+p} \geq a.c.$ , wo  $p$  die Pro-

agglutininmenge,  $a$  die Agglutininmenge,  $a.c.$  den Absorptionskoeffizienten für die Konzentration der Rezeptoren von  $a+p$  darstellt. Je größer  $p$  im Vergleich zu  $a$  ausfällt bei gleichbleibender Summe  $a+p$ , desto leichter wird diese Bedingung erfüllt. Bei gleichbleibendem Verhältnis von  $p:a$  wird das um so leichter eintreten, je größer die Summe  $a+p$  ausfällt; wir wissen nämlich, daß mit steigender Konzentration der bindenden Gruppen der Absorptionskoeffizient sinkt, daß dann also  $\frac{p}{a+p}$  desto leichter ihm gleich-

kommt oder ihn sogar übertrifft. Ein nach obiger Tab. LV berechnetes Beispiel wird die Sache am besten erklären. Nehmen wir bei gleichbleibender Bakterienmenge zwei Kombinationen: 1) Erh. Ser.  $\frac{1}{20} +$  aktiv. Ser.  $\frac{1}{20}$ : Gesamtkonzentration der bindenden Gruppen  $(p+a) = \frac{1}{20} + \frac{1}{20} = \frac{1}{10}$  (= 2000 bindende Einh. in der Volumeinheit); 2) Erh. Ser.  $\frac{1}{12} +$  aktiv. Ser.  $\frac{1}{60}$ ;  $(p+a) = \frac{1}{12} + \frac{1}{60} = \frac{1}{10}$  (= 2000 bind. Einh.), d. h. Gesamtkonzentration identisch mit der ersten. Der Absorptionskoeffizient für diese Konzentration beträgt  $\frac{15}{20}$ , d. h. von den 2000 Einheiten werden 1500 gebunden. In der ersten Kombination wird nun zuerst das ganze Proagglutinoid gebunden ( $\frac{1}{20} = 1000$  Einh.), und sodann die Hälfte des Agglutinins, d. i. weitere 500 Ag.-E. – Hemmung wird ausbleiben. In der zweiten Kombination beträgt die Proagglutinoidmenge  $\frac{1}{12}$  = 1667 bind. Einh., ist also mehr als genügend zur Deckung jener 1500 Einheiten, die gebunden werden sollen; das Agglutinin bleibt frei und Hemmung tritt ein. Wir ersehen daraus, daß, je größer die Proagglutinoidmenge im Vergleich zur Agglutininmenge (in der I. Kombination 1:1, in der II. 5:1), desto leichter wird Hemmung zu erreichen sein, bei gleichbleibender Gesamtmenge der bindenden Gruppen ( $\frac{1}{10} = 2000$  Einh.). Nehmen wir weiter dasselbe Verhältnis von Proagglutinoid-

menge zu Agglutininmenge ( $p : a$ ), z. B. 5 : 1, aber verschiedene absolute Mengen beider Körper z. B. 1) erh. Ser.  $\frac{1}{12} + \text{aktiv}$ . Ser.  $\frac{1}{60}$ : Hemmung tritt ein laut dem oben Gesagten, 2) erh. Ser.  $\frac{1}{120}$  (= 167 bind. Einh.) + aktiv. Ser.  $\frac{1}{600}$  (= 33 bind. Einh.); Gesamtkonzentration der bindenden Gruppen ( $p + a$ ) =  $\frac{1}{100}$  (= 200 bind. E.), der Absorptionskoeffizient dafür =  $\frac{18}{20}$  = 180 bind. E.; es wird also das ganze Proagglutinoid gebunden (= 167 bind. E.) und außerdem noch 13 Ag.-E. des aktiven Agglutinins, Hemmung wird ausbleiben. Bei konstantem Verhältnis der Agglutininmenge zur Proagglutinoidmenge wird Hemmung um so leichter eintreten, je größer die absolute Konzentration beider Körper sein wird. Der in Tabelle LIV dargestellte Versuch überzeugt uns, daß diese beiden theoretisch deduzierten Regeln der Wirklichkeit entsprechen. Ich will natürlich damit durchaus nicht behauptet haben, daß es leicht oder auch nur möglich wäre, für jeden besonderen Fall nach Festlegung der quantitativen Bindungsverhältnisse unter den gegebenen Umständen vorauszusagen, in welchen Grenzen Hemmung eintreten dürfte. Die oben ausgeführten Beispiele beruhen auf Voraussetzungen, die wir vorläufig auf ihre Stichhaltigkeit nicht prüfen können, daß nämlich das aktive Serum nur aktive Agglutinine enthält und von Proagglutinoiden frei ist (wir haben oben gesehen, daß wir selbst bezüglich frischer Sera diese Gewißheit nicht haben können), sodann das im inaktivierten Serum das ganze Agglutinin in Proagglutinoid und zwar ausschließlich in Proagglutinoid übergeführt ist (ebenfalls unsicher), sowie endlich, daß die Bindungsverhältnisse für das Proagglutinoid dieselben sind, wie für das Agglutinin.

Nach Besprechung dieses einfachsten Falles der gleichzeitigen Einwirkung beider Sera, wollen wir jetzt die Komplikationen erwägen, die das vorherige Einwirken eines der beiden Sera mit sich bringt. Hier ist natürlich vor allem der schon besprochene Reversibilitätsfaktor zu berücksichtigen. Seine Wirkung ist gut begreiflich, wenn zuerst das aktive und dann das inaktivierte Serum mit den Bakterien zusammengebracht wird. Die einmal eingetretene Bindung des aktiven Agglutinins wird mit der Zeit verfestigt und kann dasselbe nur mehr bei großem Proagglutinoidzusatz (Massenwirkung?) aus dieser Verbindung losgerissen werden. Diese Versuche bilden eine völlige Analogie zu den bekannten Versuchen von Dönitz über die Festigung der Diphtherie- und Tetanustoxinbindung im Organismus, sowie mit den Heilversuchen im Reagenzglas von Madsen. Schwieriger fällt schon die Erklärung des Einflusses der Zeit, wenn das inaktivierte Serum zuerst zur Wirkung gelangt, eines Einflusses, der für die Agglutination in Tab. XXXVIII bis XL, für die Präzipitation in Tab. V meiner Präzipitarbeit deutlich zu Tage tritt. Angesichts der größeren Affinität der Proagglutinoide zu den Bakterienrezeptoren sollte unter diesen Umständen beim nachträglichen Zusatz von aktivem Serum nie eine Spaltung der Proagglutinoidbakterienverbindung eintreten können, es könnte also nie eine Verfestigung dieser Bindung den quantitativen Hemmungserfolg beeinflussen. Wir haben hier vor uns eine Tatsache, die die Proagglutinoidtheorie momentan nicht zu erklären vermag. Davon abgesehen, treten in den Reihen mit vorherigem Proagglutinoid- oder Agglutininzusatz dieselben quantitativen Verhältnisse zu Tage, wie in den Versuchen mit gleichzeitigem Zusatz, nur zu Gunsten der Hemmung im ersten Fall, zu ihren Ungunsten im zweiten verschoben (Tab. LVI, LVII).

Tabelle LVI. (Prot. No. 215, 215a. 9–11. April 1905.)

Ruhrserum (a. d. Labor. L. W. Gans). 2 Std. auf 60–61° C erh. (inaktiviert laut Kontrolle). Ruhrserum vom Pf. No. 2 1904. B. dysenteriae St. Nepustil dichte Agar-aufschw. Akt. Ser. + Bakt., sodann inakt. Ser. Resultat nach 48 Std.

A.

Akt. Ser.  $1/_{1280}$ , sodann nach 0, 10, 30 Min., 1, 2, 9 Std. das inakt.

Inakt. Ser.	0 Min.	10 Min.	30 Min.	1 Std.	2 Std.	9 Std.
1 = $1/_{640}$	u. v.	u. v.	u. v. +	u. v. +	f. v.	f. v.
2 = $1/_{320}$	Sp.?	Sp.	st. Sp.	st. Sp.	st. Sp.	u. v.
4 = $1/_{160}$	k.	k.	Sp.?	Sp.	Sp.	st. Sp.
8 = $1/_{80}$	k.	k.	k.	k.	Sp.	st. Sp.
16 = $1/_{40}$	k.	k.	k.	k.	Sp.	Sp.
0	f. v.	—	—	—	—	—

B.

Aktiv. Ser.  $1/_{320}$ , sodann nach 0, 10, 80 Min., 1, 5, 17 Std. das inakt. Resultat nach 24 und 48 St.

Tropfen inakt. Ser.	0 Min.	10 Min.	30 Min.	1 Std.	5 Std.	17 Std.
1 = $1/_{320}$	u. v.	u. v.	u. v.	u. v.	u. v. +	f. v.
2 = $1/_{80}$	Sp.	st. Sp.	Sp.	Sp.	u. v.	f. v.
4 = $1/_{40}$	k.	k.	k.	Sp.?	Sp.	u. v.
8 = $1/_{20}$	k.	k.	k.	Sp.?	st. Sp.	u. v.
16 = $1/_{10}$	k.	k.	k.	k.	st. Sp.	u. v. +
0	v.	v.	—	—	—	—

C.

Aktiv. Ser.  $1/_{80}$ , sodann nach 0, 5, 30 Min., 1, 2, 4 Std. das inakt. Resultat nach 8 und 24 Std.

Tropfen inakt. Ser.	0 Min.	5 Min.	30 Min.	1 Std.	2 Std.	4 Std.
1 = $1/_{160}$	k.	Sp.?	Sp.?	Sp.	Sp.	st. Sp.
2 = $1/_{80}$	k.	k.	Sp.?	Sp.	Sp.	st. Sp.
4 = $1/_{40}$	k.	k.	k.	Sp.	Sp.	st. Sp.
8 = $1/_{20}$	k.	k.	k.	Sp.	Sp.	st. Sp.
16 = $1/_{10}$	k.	k.	k.	Sp.	Sp.	st. Sp.
0	v.	v.	—	—	—	—

D.

Aktiv. Ser.  $1/_{80}$ , sodann nach 0, 5, 10, 15, 30 Min., 1 Std.

Tropfen inakt. Ser.	0 Min.	5 Min.	10 Min.	15 Min.	30 Min.	1 Std.
4 = $1/_{40}$	u. v.	u. v.	u. v. +	u. v. +	f. v.	f. v.
8 = $1/_{20}$	st. Sp.	st. Sp.	st. Sp.	st. Sp.	u. v.	u. v.
16 = $1/_{10}$	Sp.	Sp.	st. Sp.	st. Sp.	u. v.	u. v.
0	v.	v.	—	—	—	—

Noch eine Frage, die seit der Arbeit von Eisenberg und Volk noch keine Erklärung gefunden, muß bei der Analyse des Agglutinationsmechanismus berücksichtigt werden. Es wurde nämlich von ihnen festgestellt, daß bei der Bailschen Versuchsanordnung, d. h. wenn man die Bakterien nach Einwirkung des inaktivierten Serums durch Zentrifugieren vom Ueberschuß desselben befreit und dann erst das aktive Serum zusetzt, Hemmung eintritt, wenngleich ein Teil des nachträglich

Tabelle LVII. (Prot. No. 213. 6. April 1905.)

Ser. Pf. No. 37.  $1\frac{1}{2}$  Std. auf  $68^{\circ}$  C erh. (Verd.  $\frac{1}{2}$ ). Ser. Pf. No. 11 nicht erh.  
Dichte Agarauflschw. v. B. typhi Z. Erh. Ser. + Bakt. nach 1 Std. akt. Ser.

Tropfen Aktiv. Ser.	Inaktiv. Serum Tropfen													
	1— $\frac{1}{240}$	2= $\frac{1}{120}$	2= $\frac{1}{60}$	4= $\frac{1}{30}$	8= $\frac{1}{15}$	16= $\frac{2}{15}$	0							
1= $\frac{1}{40960}$	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	—	—	u. v.	u. v.
2= $\frac{1}{20480}$	k.	Sp.?	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	—	—	u. v. + u. v.	u. v. + u. v.
4= $\frac{1}{10240}$	Sp.?	Sp.?	k.	Sp.?	k.	k.	k.	k.	k.	k.	—	—	f. v.	f. v.
8= $\frac{1}{5120}$	Sp.	st. Sp.	Sp.?	Sp.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	—	—	f. v.	f. v.
16= $\frac{1}{2560}$	st. Sp.	u. v.?	Sp.?	st. Sp.	k.	Sp.?	k.	k.	k.	k.	—	—	v.	v.
1= $\frac{1}{1280}$	st. Sp.	u. v.	Sp.	st. Sp.	k.	Sp.?	k.	k.	k.	k.	—	—	v.	v.
2= $\frac{1}{640}$	u. v.	u. v. +	st. Sp.	u. v.?	Sp.?	Sp.	k.	k.	k.	k.	—	—	v.	v.
4= $\frac{1}{320}$	u. v.	u. v. +	st. Sp.	u. v.?	Sp.?	Sp. +	k.	k.	k.	k.	—	—	v.	v.
8= $\frac{1}{160}$	u. v.	u. v. +	st. Sp.	u. v.	Sp.?	Sp. +	Sp.?	Sp.	k.	k.	—	—	v.	v.
16= $\frac{1}{80}$	u. v.	u. v.	st. Sp.	u. v.	Sp.?	Sp. +	k.	Sp.	k.	k.	—	—	v.	v.
1= $\frac{1}{40}$	u. v.	u. v.	st. Sp.	u. v.	Sp.?	Sp. +	k.	Sp.	k.	k.	k.	k.	f. v.	v.
2= $\frac{1}{20}$	u. v.	u. v.	st. Sp.	u. v.?	Sp.?	st. Sp.	k.	Sp.	k.	k.	k.	k.	f. v.	v.
4= $\frac{1}{10}$	u. v.?	u. v.	Sp.	st. Sp.	Sp.?	st. Sp.	k.	Sp.	Sp.?	Sp.	k.	k.	f. v.	f. v.
8= $\frac{1}{5}$	st. Sp.	u. v.?	Sp.	st. Sp.	k.	Sp.?	k.	Sp. +	k.	Sp.?	k.	k.	f. v.	f. v.
16= $\frac{2}{5}$	Sp.	st. Sp.	Sp.??	Sp.?	k.	k.	k.	Sp.?	Sp.?	Sp.?	k.	k.	u. v. +	f. v.
0	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.

Die in den letzten Reihen auftretende Hemmung ist auf das aktive Serum zu beziehen, wie die letzte Kolonne zeigt.

zugesetzten aktiven Agglutinins gebunden wird. In diesem Fall liegen natürlich andere Verhältnisse vor, als in dem oben besprochenen, wo der Ueberschuß des inaktivierten Serums nicht entfernt wird. Wenn nämlich dort bei nachträglichem Zusatz von aktivem Serum neue Rezeptoren gebunden werden sollen, gelangt zunächst der Proagglutinoidüberschuß zur Bindung und erst nach Erschöpfung desselben das aktive Agglutinin. Hier dagegen wird bei neuerlichem Zusatz von aktivem Serum nicht das Proagglutinoid, das entfernt worden ist, sondern aktives Agglutinin gebunden, wie von Eisenberg und Volk nachgewiesen wurde (p. 180—184). Diese Tatsache ist nun vorläufig nicht in den Rahmen der Proagglutinoidtheorie unterzubringen, außer daß man eine Hilfhypothese ad hoc konstruieren würde, daß die Bakterien neben vollkommenen Molekülen der agglutinierbaren Substanz, mit haptophorer und fällbarer Gruppe versehen, auch solche aufweisen, denen die fällbare Gruppe abgeht und die eine geringere Affinität für das Agglutinin besitzen. Die Verbindung von aktivem Agglutinin mit diesen Gruppen würde dann keine Agglutination zur Folge haben. Im oben erwähnten Fall wurde das Proagglutinoid zunächst von den vollständigen Molekülen gebunden und sodann das aktive Agglutinin von den unvollständigen. Eine solche Annahme würde, wenn sie auch ohne weiteres nicht auszuschließen ist, die ganze Auffassung der Frage sehr komplizieren, um so mehr, als die Existenz solcher Moleküle (normaler „Agglutinoide“ nach Buxton und Vaughan) sich kaum feststellen ließe.

Erwähnenswert ist ferner der Unterschied im Verhalten von Agarauflschwemmungen und Bouillonkulturen bei der Hemmung. In Uebereinstimmung mit den Beobachtungen von Lipschütz, sowie von Dreyer und Jex-Blake habe ich zu wiederholten Malen gefunden, daß Sera, die mit Agarauflschwemmungen geprüft, eine deutliche Hemmungszone zeigen, nur eine schwache oder überhaupt gar keine geben, wenn sie auf Bouillonkulturen einwirken (Tab. LVIII u. LIX).

Tabelle LVIII. (Prot. No. 226. 17. April. 1905.)

Ser. vom Pf. No. 37. 28. Dez. 1902 an der Luft ausgetrocknet, in H<sub>2</sub>O aufgelöst.  
 B. typhi Z.: Agaraufschw. u. Bouillonkultur auf den gleichen Trübungsgrad. Resultat  
 nach 2 Std. (50°), 6 Std. (Z.-T.), 24 Std. (Z.-T.)

Ser.-Verd.	Bouillonkultur			Agaraufschwemmung		
1/10	u. v. ?	u. v.	u. v.	k.	k.	k.
1/20	u. v. ?	u. v.	u. v.	k.	k.	k.
1/40	u. v.	f. v.	f. v.	k.	k.	Sp. ?
1/80	u. v.	f. v.	f. v.	f. Fl.	st. Sp.	st. Sp.
1/160	u. v.	v.	v.	Fl. Sp.	u. v. ?	u. v.
1/320	u. v. +	v.	v.	u. v.	u. v. +	u. v. +
1/640	f. v.	v.	v.	u. v. +	f. v.	f. v.
1/1280	f. v.	v.	v.	u. v. +	f. v.	f. v.
1/2560	f. v.	v.	v.	u. v. +	f. v.	f. v.
1/5120	f. v.	v.	v.	u. v. +	f. v.	f. v.
1/10240	f. v.	v.	v.	u. v. +	u. v. +	u. v. +
1/20480	f. v.	f. v.	f. v.	st. Sp. Fl.	u. v.	u. v.
1/40960	st. Fl.	f. v.	f. v.	k.	Fl.	Sp.
C	k.	k.	k.	k.	k.	k.

Tabelle LIX. (Prot. No. 226a. 18. April 1905.)

Ser. vom Pf. No. 37. 30. Okt. 1903. 20 Min. auf 68° C erh. B. typhi Z. Bouillon-  
 kultur u. Agar aufschw. auf gleichen Trübungsgrad gebracht. Resultat nach 3 Std.  
 (50°), 5 Std. (50°), 7 Std. (50°) 24 Std. (Z.-T.).

Ser.-Verd.	Bouillonkultur				Agaraufschwemmung			
1/10	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
1/20	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
1/40	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
1/80	k.	f. Fl.	Fl.	Sp.	k.	k.	k.	k.
1/160	f. Fl.	Fl.	st. Sp.	st. Sp.	k.	k.	k.	k.
1/320	Fl.	Fl. Sp.	u. v.	u. v.	k.	k.	k.	k.
1/640	st. Fl. u. v.	f. v.	f. v.	v.	k.	k.	f. Fl. ?	Sp. ?
1/1280	st. Fl.	f. v.	f. v.	v.	k.	f. Fl.	Fl.	st. Sp.
1/2560	f. Fl.	st. Sp. Fl.	st. Sp. Fl.	st. Sp.	k.	Fl.	Fl.	st. Sp.
1/5120	k.	k.	k.	Sp. ?	k.	f. Fl. ?	f. Fl.	Sp.
1/10240	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
1/20480	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
1/40960	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
C	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.

In beiden Versuchen finden wir außer der Differenz betreffs der Hemmung, daß die Agglutination der Bouillonkultur schneller und ausgesprochenener ist als die der Agar aufschwemmung. Diesen Differenzen kann man natürlich nur dann eine größere Bedeutung beimessen, wenn die Bakterienmenge in beiden Reihen gleich ist, da wir oben gesehen haben, daß dieser Faktor einen bestimmenden Einfluß auf die Hemmung ausübt. Daher trachtete ich in diesen Versuchen immer einen gleichen Trübungsgrad der Bouillonkultur und der Agar aufschwemmung durch entsprechende Verdünnung der letzteren herbeizuführen. Angesichts der trotzdem bestehenden Differenzen konnte man nun annehmen, daß trotz der gleichen Bakterienzahl die Anzahl der Agglutininrezeptoren bei jedem einzelnen Individuum in beiden Medien verschieden ist und zwar in der Agar aufschwemmung kleiner als in der Bouillonkultur oder aber, daß das Medium selbst den Hemmungsprozeß beeinflußt. Diese letztere Annahme erwies sich aber (beim Typhusbacillus) auf Grund folgenden Versuchs als unberechtigt. Von einer 2-tägigen Agarkultur von

*B. typhi* Z. wurde eine Bouillonaufschwemmung in der Weise hergestellt, daß der Trübungsgrad einer gleichalterigen Bouillonkultur entsprach; nun wurde dieselbe Menge Agarbelag in derselben Menge Kochsalzlösung aufgeschwemmt, so daß Bouillonkultur, Agar aufschwemmung in Bouillon und Kochsalz den gleichen Trübungsgrad aufwiesen und ungefähr dieselbe Bakterienmenge enthielten. Diese drei Flüssigkeiten wurden nun mit einem Serum geprüft, das eine Hemmungszone hatte; es zeigte sich, daß in beiden Aufschwemmungen die Hemmung in gleicher Weise auftrat (eher noch deutlicher in der Bouillonaufschwemmung), dagegen sehr schwach in der Bouillonkultur (Tab. LX).

Tabelle LX. (Prot. No. 237. 29. April 1905.)

Ser. vom Pf. No. 11 1904 + NaOH  $\frac{1}{4}$  N. aa nach 15 Min. neutralisiert. *B. typhi* Z. 2-täg. Bouillonkultur. Agar aufschwemmung in Bouillon und Kochsalz. Resultat nach 1 Std. (50°), 2 Std. (50°), 3 Std. (50°), 24 Std. (Z.-T.).

Ser.-Verd.	Bouillonkultur					Agaraufschw. in Bouillon				Agaraufschw. in physiol. NaCl			
$\frac{1}{30}$	k.	st. Fl.	st. Sp.	u. v.	+	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
$\frac{1}{60}$	st. Sp.	st. Sp.	u. v.	+	f. v.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
$\frac{1}{120}$	st. Sp.	u. v.	+	u. v.	+	f. v.	k.	k.	Sp.?	k.	k.	k.	Sp.
$\frac{1}{240}$	st. Sp.	u. v.	+	u. v.	+	f. v.	k.	k.	Sp.	k.	k.	Fl.	st. Sp.
$\frac{1}{480}$	st. Sp.	u. v.	+	u. v.	+	f. v.	k.	Fl.	u. v.?	k.	Fl.	st. Sp.	u. v.
$\frac{1}{960}$	st. Sp.	u. v.	+	u. v.	+	f. v.	k.	f. Fl.	st. Fl.	u. v.	k.	st. Fl.	st. Sp.
$\frac{1}{1920}$	st. Sp.	st. Fl.	u. v.	+	f. v.	k.	Fl.	st. Fl.	u. v.	k.	st. Fl.	st. Sp.	u. v.
$\frac{1}{3840}$	k.	st. Fl.	u. v.	+	u. v.	k.	k.	st. Fl.	u. v.	k.	st. Fl.	st. Fl.	u. v.
$\frac{1}{7680}$	k.	k.	f. Fl.	u. v.	?	k.	k.	k.	st. Sp.	k.	k.	Fl.	st. Sp.
$\frac{1}{15360}$	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	Sp.?	k.	k.	k.	Sp.
$\frac{1}{30720}$	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
C	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.

(Fortsetzung folgt.)

Nachdruck verboten.

## Ueber die Agglutinabilität von Bakterien, besonders des *B. typhi*.

[Aus dem staatl. serotherapeutischen Institut in Wien  
(Vorstand: Prof. R. Paltauf).]

Von Dr. O. Porges und Dr. A. Prantschoff.

(Schluß.)

Aus der vorstehenden Tabelle (p. 552), die einen Auszug aus unseren zahlreichen Versuchen wiedergibt, läßt sich folgendes Ergebnis ableiten: Während bei der normalen Kultur die Agglutinationshöhe, d. h. die Serumverdünnung, bis zu welcher Agglutination eintritt, großen Schwankungen unterliegt und namentlich bei frisch aus den Tierkörpern gezüchteten Stämmen in der Regel erheblich niedriger ist als nach einer Reihe von Laboratoriums-Nährbödenpassagen, bildet sie bei Kulturen, die eine Stunde auf 100° erhitzt worden waren, einen konstanten Wert. Die Verhältniszahl der Agglutinationshöhe normaler Kultur ( $A_n$ ) und erhitzter Kultur ( $A_{100}$ )  $\frac{A_n}{A_{100}}$  ist

ist bei leicht agglutinablen Stämmen größer als 1, bei minder oder schwer agglutinablen Stämmen gleich 1 oder kleiner als 1. Beim Stamm L I z. B. beträgt diese Zahl nach der ersten Passage 0,02, nach der 15. Passage 10.

Unsere ursprüngliche Fragestellung läßt sich nun diesen Versuchen zufolge dahin beantworten, daß die Hydrolyse des Bakterienproteins (Erhitzen auf 100°) in der Tat im stande ist, die Inagglutinabilität aufzuheben, daß demnach die Inagglutinabilität der aus dem Tierkörper gezüchteten Stämme durch vermehrte Proteinbildung hervorgerufen wird. In Uebereinstimmung mit diesem Ergebnis steht auch die bekannte Tatsache, daß man bei Bakterien, die frisch aus dem Tierkörper isoliert sind, in vielen Fällen durch geeignete Färbung eine Kapsel nachweisen kann, die als Proteinhülle aufzufassen ist. Auffallend war noch bei unseren Versuchen die Erscheinung, daß viele Stämme (z. B. Stamm L I) von höheren Verdünnungen des Immunserums durch eine Reihe von Verdünnungswerten bloß partiell ausgeflockt wurden, während dies in der Norm nur bei der Grenzverdünnung der Fall zu sein pflegt. Diese Erscheinung wird noch weiter unten eingehender erörtert werden.

Unsere Ergebnisse scheinen nun die Möglichkeit zu eröffnen, durch Verwendung auf 100° erhitzter Bakteriensuspensionen bei der Bakterienbestimmung in jenen Fällen zu einer Diagnose zu gelangen, in denen die native Kultur wegen Inagglutinabilität ein Urteil nicht gestattet. Die Voraussetzung der Verwendbarkeit dieses Verfahrens wäre strengste Spezifität der Agglutination auf 100° erhitzter Bakterien, d. h. der Agglutinationstiter der homologen Art muß erheblich höher sein als derjenige heterologer Arten. Wie aus den nachfolgenden Versuchen hervorgeht, verhält sich dies in der Tat so.

#### Versuch VII. Agglutination mit Pferdetypusimmunserum.

Stamm	Vorbehandlung	Serumverdünnung					Kontr.
		20	40	80	200	2000	
Coli 1	normal	+	—	—	—	—	—
Coli 1	1 Std. auf 100° erh.	+	—	—	—	—	—
Coli 17	1 Std. auf 100° erh.	+	—	—	—	—	—
Coli 19	1 Std. auf 100° erh.	+	—	—	—	—	—
Staphylococc. albus	normal	—	—	—	—	—	—
Staphylococc. albus	1 Std. auf 100° erh.	+	+	+	—	—	—
Typhus 3	1 Std. auf 100° erh.	+	+	+	+	+	—

Die voranstehende Tabelle gibt nur ein Beispiel unserer zahlreichen Versuche, die noch mit anderen Bakterien und Seris angestellt waren und alle den Beweis lieferten, daß die Spezifität des Serums bei 100° Bakterien durch eine hinreichende Differenz des Agglutinationstiters homologer und heterologer Kultur zum Ausdruck gelangt. Der angeführte Versuch mit Staphylokokken zeigt wieder deutlich, wie die Inagglutinabilität der normalen Bakterien durch Erhitzen auf 100° aufgehoben werden kann<sup>1)</sup>.

Für die praktische Anwendung unserer Methode bei der Bakterienbestimmung würde sich weiter die Forderung ergeben, nur Sera zu ver-

1) Anm. bei der Korr.: Unterdessen hat H. Dr. Přibram im Institute noch zahlreiche andere Staphylokokkenstämme mit dieser Methode untersucht und konnte auf diese Art große Differenzen in ihrer Agglutinabilität nachweisen.



wenden, die durch Injektion erhitzter Bakterien hergestellt sind, da nur diese in erheblichem Grade mit der 100-gradigen Kultur reagieren<sup>1)</sup>. Erwähnt sei noch, daß auch kurzes Erhitzen in saurer Lösung nach demselben Prinzip wie andauerndes in neutraler Lösung eine agglutinable Suspension herstellt. Es wäre ein ähnliches Verfahren anzuwenden, wie es für die Agglutination der Kapselbakterien empfohlen worden ist.

Eine Agarkultur wird mit 10 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt, die Suspension mit 1 ccm  $\frac{1}{4}$  Normalsalzsäure versetzt, im Wasserbade 15–30 Minuten auf 80° erhitzt, hierauf abgekühlt und mit  $\frac{1}{4}$  Normalnatronlauge neutralisiert. (Es darf auch nicht vorübergehend überneutralisiert werden, da sich die Bakterien in Alkali rasch auflösen.)

Während bei Typhusbakterien das Erhitzen in neutraler Lösung ausreicht, um eine agglutinable Suspension zu liefern, erweist es sich bei anderen Arten als ungenügend; in diesen Fällen führt Erhitzen in saurer Lösung zum Ziele, so daß wir diese Methode, trotzdem sie ein wenig umständlich ist, als diejenige bezeichnen müssen, die uns von dem Grade der Agglutinabilität am ehesten unabhängig macht.

#### b) Die Inagglutinabilität der Exsudatbakterien.

Im Jahre 1902 veröffentlichte Bail<sup>2)</sup> eine größere Untersuchungsreihe, in der er den Nachweis zu führen suchte, daß Typhusbakterien, die aus dem Peritonealexsudat infizierter Meerschweinchen gewonnen waren, eine herabgesetzte Agglutinabilität zeigten. Bail nimmt als Ursache dieser Erscheinung eine hemmende Wirkung eines hypothetischen, im Peritonealexsudat vorhandenen Körpers, des „Agglutinophors“ an, der die Bakterienrezeptoren besetzen und auf diese Art die Einwirkung des Agglutinins verhindern soll. In späteren Publikationen scheint Bail von dieser Deutung wieder Abstand genommen zu haben.

Unsere Erfahrungen über die Inagglutinabilität legten uns den Gedanken nahe, für die Agglutinationsresistenz der Exsudatbakterien ähnliche Ursachen anzunehmen, wie für diejenige der aus dem Tierkörper gezüchteten Stämme. Allerdings ist nach den Angaben von Bail die Inagglutinabilität der Exsudatbakterien auf die nächste Generation nicht mehr übertragbar, während im Gegensatz dazu in sonstigen Fällen schwer ausflockbare Bakterien durch eine größere oder kleinere Reihe von Passagen in ihrem Ausflockungsvermögen unverändert bleiben.

Unsere Versuche konnten die Angaben Bails dem tatsächlichen Inhalt nach insofern bestätigen, als innerhalb der von Bail eingehaltenen Beobachtungszeit (6-stündig) die Agglutinationshöhe der Exsudatbakterien im Vergleiche zu normaler Kultur deutlich herabgesetzt war. Ganz anders gestalteten sich aber die Verhältnisse bei 24-stündiger Beobachtungsdauer. Nach 24 Stunden erreichte die Agglutinationshöhe der Exsudatbakterien nicht nur den Betrag der normalen Kultur, sondern ging mitunter sogar über denselben hinaus. Ein Beispiel unserer zahlreichen diesbezüglichen Versuche bringen wir in Nachstehendem.

Ein Meerschweinchen wird mit einer in Kochsalzlösung aufgeschwemmten 16-stündigen Agarkultur intraperitoneal injiziert. Am nächsten Morgen wird es tot im Käfig aufgefunden. Die steril eröffnete Bauchhöhle wird mit 20 ccm physiologischer Kochsalzlösung ausgespült, die Spülflüssigkeit durch Papier filtriert. Sie stellt eine dichte Aufschwemmung von Typhusbacillen dar. Diese Bakteriensuspension wird mit

1) Porges, Centralbl. f. Bakt. etc. Orig. Bd. XXIX. 1905. p. 319.

2) Bail, Archiv f. Hyg. Bd. XLII. 1902. p. 307.

einer 24-stündigen in Kochsalzlösung aufgeschwemmten Agarkultur hinsichtlich ihrer Agglutinabilität verglichen und zeigt folgendes Verhalten.

# Versuch VIII. Agglutination mit Pferdetypusimmunserum.

Kultur	Serumverdünnung						Kontr.	Beobachtungszeit
	20	200	2000	4000	8000	20 000		
Exsudatbakt.	+	+	Spur	—	—	—	—	Nach $\frac{3}{4}$ Std. b. 37°
Normale Bakt.	+	+	+	+	+	+	—	
Exsudatbakt.	+	+	+	+	Spur	—	—	Nach 2 Std. b. 37°
Normale Bakt.	+	+	+	+	+	+	—	
Exsudatbakt.	+	+	+	+	+	+	—	Nach 20 Std. b. Zimmertemp.
Normale Bakt.	+	+	+	+	+	+	—	
Exsudatbakt.	+	+	+	+	+	+	—	Nach 24 Std. b. Zimmertemp.
Normale Bakt.	+	+	+	+	+	+	—	

Zahlreiche andere Versuche hatten das gleiche Ergebnis, auch solche mit einem anderen Stamme, unter Verwendung eines anderen Immunserums, bei Beobachtung im hängenden Tropfen und mit anderen kleinen Modifikationen. Eine eigentliche Inagglutinabilität ist demnach bei den Exsudatbakterien nicht vorhanden, sondern lediglich eine Agglutinationsverzögerung. Es lag aber außerhalb unseres Ausgangsthemas, den Ursachen letzterer Erscheinung nachzugehen.

## c) Ursachen der Inagglutinabilität, die an eine bestimmte Züchtungstemperatur geknüpft ist.

Eine besondere Rolle spielt bezüglich der Inagglutinabilität die Züchtungstemperatur, wie wir aus den Untersuchungen von Kirstein, Shibayama und Streit wissen. Kirstein<sup>1)</sup> konnte zeigen, daß eine bei Bruttemperatur gezüchtete *Prodigiousus*-Kultur ein viel geringeres Ausflockungsvermögen aufweist als die bei Zimmertemperatur gewachsene. Eine ähnliche Differenz fand Shibayama bei Pestkulturen, die im Brutschrank und bei Eiskühlung gewachsen waren.

Bemerkenswert ist die Beobachtung von Shibayama<sup>2)</sup>, daß die im Brutschrank gezüchteten schwer agglutinablen Pestkulturen Schleim bilden sowie diejenige von Streit<sup>3)</sup>, daß die Bakterien der Friedländer-Gruppe bei 8° trockner wachsen und leichter agglutinabel sind als Brutschrankkulturen. Da nun vermehrte Proteinbildung sich als Schleimbildung manifestiert, wie aus den bereits erwähnten früheren Untersuchungen hervorgeht, so lag die Vermutung nahe, daß auch die Inagglutinabilität der erwähnten Brutschrankkulturen von *Prodigiousus* durch vermehrte Proteinbildung bedingt ist, wie sich dies in anderen Fällen hat nachweisen lassen. War diese Vermutung richtig, so mußten die Differenzen in der Agglutinabilität nach partieller Hydrolyse des Proteins verschwinden.

Zur Untersuchung gelangten mehrtägige Kulturen des *B. prodigiousus*, da es sich zeigte, daß junge Kulturen in ihrer Agglutinabilität durch Züchtung bei verschiedenen Temperaturen nur wenig verändert werden. Das Immunserum war durch 2 Injektionen von erhitzten Agarkulturaufschwemmungen hergestellt.

1) Kirstein, l. c.

2) Shibayama, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXVIII. 1905. p. 482.

3) Streit, l. c.

## Versuch IX. Prodigiosus Kaninchenimmunserum.

Kultur	Vorbehandlung	Serumverdünnung					Kontr.
		20	50	100	150	250	
b. Zimmertemp.	normal	+	+	+	+	±	—
b. Bruttemp.	normal	+	±	—	—	—	—
b. Zimmertemp.	$\frac{3}{4}$ Std. mit Säure erhitzt	+	+	+	±	—	—
b. Bruttemp.	$\frac{3}{4}$ Std. mit Säure erhitzt	+	+	+	±	—	—

Da durch 1-stündiges Erhitzen auf 100° in neutraler Lösung die Agglutinabilität, die beim Erhitzen bekanntlich vollständig verschwindet, nur in geringem Grade zurückkehrte, so mußte behufs intensiverer Hydrolyse der Eiweißkörper in saurer Lösung  $\frac{3}{4}$  Stunde auf 80° erhitzt werden (eine Agarkulturaufschwemmung mit 1 ccm  $\frac{1}{4}$  Normalsalzsäure). Auf diese Art gelang es, eine agglutinable Suspension zu erhalten, bei der aber, wie die Tabelle lehrt, die Unterschiede zwischen der Brutschrankkultur und der bei Zimmertemperatur gezüchteten Kultur nunmehr beseitigt waren.

Dieses Ergebnis ließ sich jedoch nur in einem Versuche feststellen, während in anderen die von Kirstein beschriebene differente Agglutinabilität von Zimmertemperatur- und -Brutschrankkultur nicht zu beobachten war. Ein ganz unerwartetes Ergebnis hatte der Vergleich einer mehrtägigen Eisschrank- und Brutschrankkultur.

Versuch X. Kaninchenimmunserum, gewonnen durch 3malige Injektion einer durch Hitze sterilisierten Prodigiosusbrutschrankkultur.

Kultur	Vorbehandlung	Serumverdünnung					Kontr.
		50	100	200	400	800	
Brutschrankkultur	normal	+	+	+	+	±	—
Eisschrankkultur	normal	Spur	—	—	—	±	—
Brutschrankkultur	1 Stde. mit Säure auf 80° erh.	+	+	+	±	—	—
Eisschrankkultur	1 Stde. mit Säure auf 80° erh.	+	+	+	±	—	—

Wie aus der Tabelle hervorgeht, war das Auflockerungsvermögen der bei Eisschranktemperatur gezüchteten Kultur fast vollständig geschwunden, während die Brutschrankkultur bis zu hohen Serumverdünnungen agglutinierte. Nach dem Ergebnis der oben erwähnten Versuche von Shibayama hätte man vielleicht gerade das umgekehrte Verhalten erwartet. Indessen mag das Wachstumsoptimum, das bei *B. prodigiosus* tief unter Bruttemperatur liegt, hier eine besondere Rolle spielen, vielleicht auch die Anpassung an eine bestimmte Züchtungstemperatur. Die Eisschrankkulturen hatten sich sehr langsam entwickelt, waren dann aber innerhalb kurzer Zeit zu einem dichten, üppigen Rasen herangewachsen, die innerhalb von 24 Stunden entwickelte Brutschrankkultur bildete auf die Dauer einen zarten, dünnen Belag. Jedenfalls wird auch hier durch den obigen Versuch gezeigt, daß die Inagglutinabilität durch vermehrte Proteinbildung bedingt ist, denn die durch Erhitzen in saurer Lösung vorbehandelte Eisschrankkultur gab bis zu hoher Serumverdünnung Agglutination.

### III. Versuche, die Agglutinabilität durch besondere Züchtungsbedingungen zu modifizieren.

Es ist nicht beabsichtigt, die umfangreiche, hierher gehörige Literatur vollständig zu zitieren.

Einige Autoren hatten versucht, die Agglutinabilität durch Tierpassagen abzuändern, die meisten mit negativem Resultat, nur Saquépée<sup>1)</sup>, der Typhusbacillen in Kollodiumsäckchen im Peritoneum immunisierter Ratten hielt, konnte eine inagglutinable Rasse erzielen.

In eigenen Versuchen konnten wir durch eine Reihe von Meerschweinchenpassagen keine Veränderung der Agglutinabilität erreichen. Da möglicherweise die jedesmalige Zwischenschaltung von Laboratoriums-nährböden, die sich bei Impfung von Tier zu Tier als notwendig erwies, das Mißlingen des Versuches verursacht haben konnte, prüften wir den Einfluß eines längeren ununterbrochenen Aufenthaltes im Tierkörper. Zu diesem Zwecke benutzten wir den von Blackstein<sup>2)</sup> und Welch seinerzeit erhobenen und von Dörr<sup>3)</sup> sowie Forster und Kayser<sup>4)</sup> neuerdings bestätigten Befund, daß sich nach einmaliger Infektion noch nach Wochen aus der Gallenblase Bakterien kultivieren lassen. Ein kräftiges Kaninchen wurde 35 Tage nach einer intravenösen Injektion mit Typhusbakterien getötet. Die Galle enthielt Typhusbakterien in Reinkultur. Die aus der Galle auf Agar verimpfte Kultur verhielt sich aber hinsichtlich ihrer Agglutinabilität genau so wie die zur Injektion verwendete Kultur des Stammes. In ähnlicher Weise zeigte ein aus dem Peritoneum eines Meerschweinchens, welches 20 Tage vor dem Tode mit Typhus intraperitoneal injiziert worden war, gezüchteter Stamm keine Veränderung seiner Agglutinabilität.

Wie man aus diesen Versuchen ersieht, hängt die Inagglutinabilität, die man bei aus Leichen gezüchteten Stämmen beobachtet hat, von nicht näher definierbaren Begleitumständen ab. Zu ähnlichen Schlußfolgerungen führen die in der Literatur beschriebenen Versuche, die Agglutinabilität mittelst Passagen durch agglutininhaltige Nährböden abzuändern. Während Ransom und Kitashima, Bail, Müller, Hamburger, Walker, Kirstein u. A. auf diese Weise Inagglutinabilität erzeugten, fand Nicolle und Hamburger Spontanagglutination<sup>5)</sup>, Tarchetti<sup>6)</sup> Erhöhung der Agglutinierbarkeit. In eigenen Versuchen erhielten wir nach mehreren Passagen durch Agglutinin enthaltende Bouillon einen spontan ausflockenden Typhusstamm, in anderen Fällen war keine Veränderung der Ausgangskultur hinsichtlich ihrer Agglutinabilität festzustellen.

Dem Voranstehenden zufolge scheint also Passage durch besondere Nährböden keine Modifikation der Agglutinabilität in bestimmter Richtung zu bedingen. Dieses Erkenntnis wurde auch noch durch unsere Beobachtungen über die Variabilität der Laboratoriumsstämme befestigt. Kollege Dr. Příbram hatte nämlich seinerzeit sämtliche Cholerastämme des Institutes agglutinatorisch bestimmt und bei diesem Anlasse gefunden,

1) Saquépée, Annal. de. l'Inst. Pasteur. T. IV. 1901.

2) Blackstein u. Welch, Johns Hopk. Hosp. Bull. 1899.

3) Dörr, Centralbl. f. Bakt. etc. Orig. Bd. XXXIX. 1905. p. 624.

4) Forster u. Kayser, Münch. med. Wochenschr. 1905. p. 31.

5) Ransom u. Kitashima, Deutsche med. Wochenschr. 1898. p. 293. Bail, Müller, Hamburger l. c. Walker, Journ. of Path. a. Bact. Vol. VIII. 1902. Nicolle l. c.

6) Tarchetti, Clin. med. Ital. 1899. p. 16.

daß einige von denselben spontan agglutinierten, wie dies ja bei Cholera und Vibrionen oft beobachtet wird. Zu unserer Ueberraschung sahen wir nun nach einigen Monaten, daß die seither einige Male überimpften spontan agglutinierenden Stämme nunmehr eine stabile Suspension gaben, während andere die Erscheinung der Spontanausflockung erkennen ließen, bei denen sie früher nicht zu beobachten war.

Eine Erklärung für dieses Verhalten schien uns nun eine andere Beobachtung zu bringen. Wie oben schon erwähnt wurde, ließen sich einige der aus Leichen isolierten Stämme von einer bestimmten Serumverdünnung ab nur partiell agglutinieren, trotzdem die Agglutinationsgrenze noch bei weitem nicht erreicht war. Daß eine besondere Beschaffenheit des Serums diese Erscheinung verursacht haben konnte, wie in einem von Wassermann<sup>1)</sup> beschriebenen Falle, ließ sich mit Bestimmtheit ausschließen, denn bei Anwendung anderer Sera zeigte sich dasselbe Verhalten, und andere Stämme wurden durch diese Sera unter vollständiger Klärung der Flüssigkeit ausgeflockt. Eine Verunreinigung der Stämme konnte ebenfalls mit Sicherheit ausgeschlossen werden. (Die diesbezügliche Untersuchung wurde mit großer Sorgfalt durchgeführt, namentlich wurde auf die mögliche Anwesenheit von *B. alcaligenes*, *B. dysenteriae* geachtet.) Ein Kaninchenimmunserum, das durch 2malige Injektion eines derartigen Stammes erzeugt war, zeigte folgendes Verhalten:

#### Versuch XI.

Stamm	Serumverdünnung						Kontr.
	20	200	1000	2000	10 000	20 000	
Homologer, partiell agglutiniert Stamm	±	±	±	±	±	±	—
Laboratoriumsstamm	+	-	+	+	±	Spur	—

Dieses Versuchsergebnis führte zur Vermutung, daß die partielle Agglutination durch die Gegenwart zweier hinsichtlich ihrer Agglutinabilität verschiedener Bakterienvarietäten bedingt ist. Ein Beweis für diese Annahme ergab sich nun zunächst aus den Versuchen mit spontan ausflockenden Stämmen. Es zeigte sich nämlich, daß letztere mitunter nach dem Sedimentieren die Flüssigkeit noch leicht trübten. Es wurde nun bei einem solchen Stamme (es war ein spontan ausflockender *B. dysenteriae* Kruse-Shiga) von dem Bodensatz und aus der darüber stehenden leicht getrübbten Flüssigkeit je eine Kultur angelegt. Die Kultur aus der obenstehenden Flüssigkeit hatte die Spontanagglutinabilität eingebüßt, die aus dem Bodensatz glich der Ausgangskultur. Nunmehr wurden beide täglich auf schrägen Agar weitergeimpft. Nach 7 Passagen waren die Verhältnisse noch unverändert. Jetzt wurde bei der spontan agglutinierenden Kultur abermals aus dem Bodensatz und der darüber stehenden Flüssigkeit abgeimpft; es resultierten abermals 2 Stämme, ein homogen suspendierter und ein spontan agglutinierender. Ähnliche Resultate wurden mit spontan agglutinierenden Typhus- und Cholerastämmen erzielt.

War nun auf diese Art nachgewiesen, daß jedes spontan ausflockende Kultur aus einer Varietät von größerer und aus einer von geringerer Suspensionsstabilität zusammengesetzt ist, so mußten sich dieselben auch

1) Wassermann, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLII. 1903. p. 267.

durch das Plattenverfahren trennen lassen. Zu diesem Behufe wurde eine spontan agglutinierende Typhuskultur auf eine Agarplatte dünn verstrichen. Aus den isolierten Kolonien, die auf dieser Platte aufgegangen waren, wurden Schrägagarkulturen angelegt, diese nach 16-stündigem Wachstum in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Von diesen Aufschwemmungen zeigten nun die einen Spontanausflockung, andere blieben dauernd suspendiert.

Nachdem es nun gelungen war, die spontan ausflockenden Stämme gewissermaßen in 2 Fraktionen zu zerlegen, wurde das Gleiche zunächst mit den partiell agglutinierenden Typhusstämmen versucht.

Die mit einer bestimmten Serumverdünnung versetzte Kulturaufschwemmung wurde nach mehrstündigem Aufenthalt im Brutschrank zentrifugiert, hierauf aus dem Bodensatz und der darüber stehenden Flüssigkeit je eine Kultur angelegt. Diese Kulturen wurden dann wieder in derselben Weise verarbeitet und dieses Verfahren einigemal fortgesetzt. Es gelang nun in einigen Fällen tatsächlich, durch diese Methode eine schwer agglutinable Kultur zu züchten. In einem Falle war nach einmaligem Abimpfen aus der oberen Flüssigkeit eine Kultur erzielt worden, die nur spurenweise agglutinierte. Dieselbe Kultur zeigte nach 1-stündigem Erhitzen auf 100° vollständige Ausflockung bis zu 1000-facher Serumverdünnung. Bei vielen Versuchen ließ sich hingegen eine Veränderung der Ausgangskultur nicht erzielen, trotzdem die Sedimentierung mit großer Sorgfalt vorgenommen worden war. Auf eine ausführliche Wiedergabe dieser Versuche wollen wir verzichten, da sie die vorliegende Frage nicht zu entscheiden vermögen. Vermutlich dürften die einander widersprechenden Resultate dadurch bedingt sein, daß in manchen Fällen die Trennung der beiden Kategorieen von Bakterien, infolge von Bedingungen, die sich nicht beherrschen lassen, unvollständig erfolgt. Jedenfalls ist die Gegenwart einer schwerer und einer leichter agglutinablen Varietät in vielen Kulturen durch unsere Versuche mit spontan agglutinierenden Bakterien festgestellt. Je nachdem, ob nun hauptsächlich die eine oder die andere Varietät zur Ueberimpfung gelangt oder sich vermehrt, mag nun die Agglutinabilität in positivem oder negativem Sinne modifiziert werden.

### Schlußbemerkungen.

An dieser Stelle sei es auch gestattet, zu gewissen Fragen theoretischer Natur, die in unserer Arbeit geprüft worden sind, Stellung zu nehmen, um Mißverständnissen über unsere Auffassung vorzubeugen. Diese Fragen betreffen die Reaktionseigentümlichkeiten der Agglutination, sowie die aus ihnen zu folgernde Eigenart des Agglutinins und der agglutinablen Substanz. Wir sind im Vorhergehenden für die Auffassung der Agglutination als einer kolloidalen Fällungserscheinung eingetreten. Diese Anschauung steht nicht in notwendigem Gegensatz zu der Auffassung von Eisenberg und Volk<sup>1)</sup>, welche eine auf Ehrlichs Theorie basierte Erklärung gegeben haben. Eisenberg und Volk sowie auch später Wassermann<sup>2)</sup> nehmen einen komplexen Bau sowohl des Agglutinins als auch der agglutinablen Substanz an, denen sie eine thermostabile bindende und eine thermolabile fallende Gruppe zuschreiben. Wir konnten nun diese allgemein gehaltene Erklärung durch

1) Eisenberg und Volk, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XL. 1902. p. 155.

2) Wassermann l. c.

unsere Versuche näher beleuchten, denn das Bakterieneiweiß, das wir als den Träger der agglutinablen Substanz annehmen müssen, erweist sich tatsächlich in seiner agglutininbindenden Eigenschaft als thermostabil, während seine Fällbarkeit durch die bekannten physikalisch-chemischen Zustandsänderungen der Eiweißkörper Modifikationen erleidet. Dieselbe Betrachtungsweise ist für das Agglutinin anzuwenden. Der Erklärung des Agglutinationsoptimums von Eisenberg und Volk können wir uns dagegen nicht anschließen. Diese Autoren haben nämlich für die von ihnen beobachtete fällungshemmende Wirkung konzentrierter Immunsera, die besonders bei durch Hitze und chemische Agentien modifizierten Seris hervortritt, die ihrer fällenden Gruppe beraubten Agglutinine verantwortlich gemacht, welche eine größere Affinität zu den Bakterienrezeptoren besitzen sollen als die Agglutinine, und bei entsprechender Konzentration des Serums alle Rezeptoren besetzen, so daß das Agglutinin sich nicht mehr anlagern kann. Die von uns oben beigebrachten Versuche bezüglich der hemmenden Wirkung des Agglutinins auf die Spontanagglutination würden nun im Sinne von Eisenberg und Volk die Annahme erfordern, daß die ausflockenden Salzionen dieselben Rezeptoren angreifen, die vom Agglutinin besetzt werden, eine Anschauung, die sich wohl nicht aufrecht erhalten lassen dürfte. Dagegen bringt die Auffassung des Agglutinationsoptimums als eine kolloidale Reaktionseigentümlichkeit, wie sie auch bei anderen Kolloiden zu beobachten ist, eine einwandfreie Erklärung. Die Spezifität der Reaktion, die nach Ehrlich eine Beteiligung von chemischen Affinitäten erfordert, kann wohl nicht als Einwand gegen unsere Auffassung gelten, denn auch bei kolloidalen Reaktionen dürften chemische Affinitäten beteiligt sein.

---

*Nachdruck verboten.*

## Ueber die Wirkung der bakteriologischen Heilsera bei wiederholten Injektionen.

[Aus dem k. Institut für Infektionskrankheiten in Tokio. Direktor:  
Prof. Dr. S. Kitasato.]

Von Dr. G. Shibayama, Abteilungsvorsteher am Institut.

(Schluß.)

Bei dem bakteriolytischen Immuns Serum kann man wohl die Ursache für das rasche Aufhören der passiven Immunität in der Wirkung des Antiambozeptors finden, da der Ambozeptor seinen Antikörper bildet, wie Pfeiffer und Friedberger zuerst nachgewiesen haben. Ich habe auch in meiner Arbeit „Ueber den Wirkungsmechanismus des Antiserums“ (13) die Bildung des Antiambozeptors konstatiert, wobei ich über seinen vermutlichen Wirkungsmechanismus eine andere Meinung äußerte, als die man zur Zeit allgemein annimmt. Wie ich schon in genannter Arbeit erwähnte, waren alle Bemühungen, durch Vorbehandlung von Tieren mit antitoxischem oder agglutinierendem Serum ein Antiantitoxin oder Antiagglutinin zu erzielen, ganz vergeblich. Wassermann (14) hat nach seiner Angabe sich in gleichem Sinne bemüht, aber ebenfalls ohne Resultat. Aus diesen Gründen können

wir nicht den Schluß ziehen, daß die Ursache der kurzen Dauer der passiven Immunität auf einem Antikörper der wirkenden Substanz beruht, denn Antitoxin und Agglutinin gehen auch bei passiver Immunität mit heterologem Serum rasch ohne Bildung der Antikörper (Antitoxin und Antiagglutinin) verloren. Es muß hierbei irgendwo die komplizierte Wirtschaft des Organismus noch eine Rolle spielen.

Die praktisch für Serumtherapie wichtigere Frage ist die von der Wirkung oder dem Schicksal der bakteriolytischen Heilsera im Organismus bei wiederholten Injektionen. Für Typhuskranke injizieren wir wiederholt Typhusperdeserum subkutan, bis das Fieber dadurch beeinflußt wird. Bei der Serumtherapie der chronischen Infektionskrankheiten, wie z. B. Tuberkulose, muß man naturgemäß auch wiederholt injizieren, wenn man auch zur Zeit weder ein antitoxisch noch bakteriolytisch wirksames Heilserum hergestellt hat. Ich habe diese Frage experimentell untersucht. Ich stellte die betreffenden Experimente mit Choleraperdeserum am Kaninchenorganismus an. Der Vollständigkeit halber schicke ich zuerst die Resultate der Experimente über die Dauer der passiven Immunität mit homologem und heterologem Choleraserum voraus. Bei meinen Versuchen wurden Kaninchen bestimmte Mengen von homologem Cholerakaninchen serum oder heterologem Choleraperdeserum subkutan oder intraperitoneal injiziert. In gewissen Intervallen nach der Injektion wurden die Tiere entblutet, und der Agglutinationswert oder bakteriolytische Wert des entnommenen Serums geprüft. Die Prüfung des bakteriziden Titers des Serums erfolgte nach dem Vorgehen von dem Neisser-Wechsberg'schen Plattenverfahren; als Komplement brauchte ich frisches Meerschweinchen serum. Die Grenzwerte der Agglutination wurden nach 24 Stunden im Brutschrank makroskopisch bestimmt.

Aus den vorstehenden Versuchen (Heft 5) ersehen wir also, daß das Agglutinin des heterologen Immunserums innerhalb ca. 12 Tagen nach der Injektion fast total aus dem Organismus ausgeschieden wird, und daß das des homologen Serums 2—2½ mal länger verbleibt, als das heterologe. Bei der intraperitonealen Einverleibung geht das Agglutinin rascher als bei der subkutanen verloren (bei homologem Serum). Es wurde auch bei dem Versuche nachgewiesen, daß die bakterizide Wirkung des homologen Serums länger im Organismus dauert, als die des heterologen. Besonders kurz dauert die passive Immunität des heterologen Serums, wenn man anstatt des Vollserums Serumglobulin einverleibt, das durch Sättigung mit Ammonsulfat gefällt wurde. Auch bei der Injektion mit steigenden Dosen steigt die bakterizide Kraft des Serums, welches aus den mit heterologem Serum behandelten Kaninchen stammt, nur innerhalb einiger Tage, dann geht diese Kraft plötzlich herunter. Das steht im vollen Einklang mit den anderen gefundenen Ergebnissen und vielleicht auch mit der Tatsache von der Antiserumbildung.

Nachdem ich in vorstehenden Versuchen nachgewiesen habe, daß die volle Wirkung des heterologen bakteriziden Immunserums selbst bei Einverleibung der steigenden Dose sich nicht entfalten kann, wurde in analoger Weise das Verhalten des heterologen Immunserums, welches in derselben Dose und in derselben Weise dem Tierkörper einverleibt wurde, untersucht.



Versuch über die Dauer der passiven Immunität von heterologem Serum, welches hintereinander dieselbe Dose im Kaninchen-organismus einverlebt wurde.

Kaninchen No. 15. Gewicht 2230.

14. Dez. 1905 3,0 ccm Choleraapferdeserum subkutan injiziert. Blutserum vor der Injektion keine bakteriolytische Wirkung bei 0,2 ccm.

15. Dez. entblutet.

Dosis des Serums	Zahl der Kolonien
0,1 ccm	0
0,05 "	0
0,01 "	0
0,005 "	ca. 10
0,001 "	∞

16. Dez. 3,0 ccm Choleraapferdeserum subkutan injiziert.

17. Dez. entblutet.

Dosis des Serums	Zahl der Kolonien
0,1 ccm	0
0,05 "	0
0,01 "	0
0,005 "	0
0,001 "	∞

18. Dez. 3,0 ccm Serum injiziert.

19. " entblutet.

Dosis des Serums	Zahl der Kolonien
0,1 ccm	0
0,05 "	0
0,01 "	0
0,005 "	0
0,001 "	∞

20. Dez. 3,0 ccm Seruminjektion.

21. " entblutet.

Dosis des Serums	Zahl der Kolonien
0,1 ccm	0
0,05 "	0
0,01 "	hundert
0,005 "	tausende
0,001 "	∞

23. Dez. entblutet.

Dosis des Serums	Zahl der Kolonien
0,1 ccm	0
0,05 "	hundert
0,01 "	∞
0,005 "	∞
0,001 "	∞

23. Dez. 3,0 ccm Seruminjektion.

24. " entblutet.

Dosis des Serums	Zahl der Kolonien
0,1 ccm	hundert
0,05 "	"
0,01 "	∞
0,005 "	∞

26. Dez. 3,0 ccm Seruminjektion

27. " entblutet

Dosis des Serums	Zahl der Kolonien.
0,1 ccm	∞
0,05 "	∞
0,01 "	∞
0,005 "	∞

28. Dez. 3,0 ccm Seruminjektion.

30. " 3,0 "

2. Jan. 1906 3,0 ccm Seruminjektion.

6. " 1906 0,3 ccm injiziert

7. " 1906 entblutet

Kaninchen No. 16. Gewicht 2030.

14. Dez. 1905. 2,0 ccm Choleraapferdeserum subkutan injiziert. Sonst wie No. 15

15. Dez. entblutet.

Dosis des Serums	Zahl der Kolonien
0,1 ccm	0
0,05 "	0
0,01 "	0
0,005 "	ca. 30
0,001 "	∞

16. Dez. 2,0 ccm Choleraapferdeserum subkutan injiziert.

17. Dez. entblutet.

Dosis des Serums	Zahl der Kolonien
0,1 ccm	0
0,05 "	0
0,01 "	0
0,005 "	0
0,001 "	∞

18. Dez. 2,0 ccm Serum injiziert.

19. " entblutet.

Dosis des Serums	Zahl der Kolonien
0,1 ccm	0
0,05 "	0
0,01 "	0
0,005 "	0
0,001 "	∞

20. Dez. 2,0 ccm Seruminjektion.

21. " entblutet.

Dosis des Serums	Zahl der Kolonien
0,1 ccm	0
0,05 "	0
0,01 "	hundert
0,005 "	tausende
0,001 "	∞

23. Dez. entblutet.

Dosis des Serums	Zahl der Kolonien
0,1 ccm	0
0,05 "	einige
0,01 "	∞
0,005 "	∞
0,001 "	∞

23. Dez. 2,0 ccm Seruminjektion.

24. " entblutet.

Dosis des Serums	Zahl der Kolonien
0,1 ccm	hundert
0,05 "	"
0,01 "	∞
0,005 "	∞

26. Dez. 3,0 ccm Seruminjektion.

27. " entblutet.

Dosis des Serums	Zahl der Kolonien
0,1 ccm	tausende
0,05 "	"
0,01 "	∞
0,005 "	∞

28. Dez. 2,0 ccm Seruminjektion.

28. " 2,0 "

2. Jan. 1906 2,0 ccm Seruminjektion

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 entblutet.

3. " 1906 ent

Dosis des Serums	Zahl der Kolonien	Dosis des Serums	Zahl der Kolonien
0,1 ccm	$\infty$	0,1 ccm	$\infty$
0,05 „	$\infty$	0,05 „	$\infty$
0,01 „	$\infty$	0,01 „	$\infty$
12. Jan. entblutet		12. Jan. entblutet.	
Dosis des Serums	Zahl der Kolonien	Dosis des Serums	Zahl der Kolonien
0,1 ccm	$\infty$	0,1 ccm	$\infty$
0,05 „	$\infty$	0,05 „	$\infty$
0,01 „	$\infty$	0,01 „	$\infty$

Wie der vorstehende Versuch zeigt, bleibt die passive Immunität in der ersten Woche fast unverändert, wenn man gleiche Dosen von Serum hintereinander an jedem dritten Tage einverleibt. Aber mit der Zeit wird die Immunität nach und nach schwächer, so daß man in der Mitte oder am Ende der dritten Woche den Antikörper im Serum nicht mehr nachweisen konnte, obgleich das Serum an dem der Injektion folgende Tage entnommen wurde. Aus dieser Tatsache müssen wir den Schluß ziehen, daß im Organismus, welcher wiederholt mit Heteroimmunserum behandelt wird, sich ein Antikörper bildet, der die Wirkung des betreffenden Serums paralyisiert. Die Natur und Wirkungsweise dieses Antikörpers müssen aber weiter verfolgt werden.

#### Literatur.

- 1) Loss, Jahrb. f. Kinderheilkunde. Bd. XLII.
- 2) Zizzoni und Cattani, Berl. klin. Wochenschr. 1893.
- 3) Passini, Wien. klin. Wochenschr. 1896.
- 4) Müller, Jahrb. f. Kinderheilkunde. Bd. XLIV.
- 5) Vagedes, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XX.
- 6) Nocard, Journ. des Conn. méd. 1896.
- 7) Ransom, Journ. of Path. and Bact. 1899.
- 8) Kitashima, Berl. klin. Wochenschr. 1901.
- 9) Schütze, Festschr. R. Koch.
- 10) Dehne u. Hamburger, Wien. klin. Wochenschr. 1904.
- 11) Pfeiffer u. Friedberger, Berl. klin. Wochenschr. 1902.
- 12) Wassermann u. Bruck, Zeitschr. f. Hyg. 1905.
- 13) Shibayama u. Toyoda, Centralbl. f. Bakt. 1906.
- 14) Wassermann, Zeitschr. f. Hyg. 1902.

Nachdruck verboten.

## Antwort auf Dr. Karl Landsteiners Bemerkungen anlässlich der vorläufigen Mitteilung über Hämolysinbildung von Bang und Forssmann.

Von Prof. Dr. J. Bang und Prof. Dr. J. Forssmann, Lund, Schweden.

Unsere vorläufige Mitteilung „Untersuchungen über Hämolysinbildung“, die in diesem Centralblatte, Bd. XL publiziert ist, hat dem Dr. K. Landsteiner Veranlassung gegeben, einige Untersuchungen auf dem Gebiete der Hämolysinlehre, die von ihm zusammen mit den Herren Jagic und v. Eisler gemacht worden sind, uns gegenüber hervorzuheben, und dies, weil diese Untersuchungen nicht von uns erwähnt waren.

Daß wir diese Herren in unserer vorläufigen Mitteilung nicht zi-

tierten, kam davon her, daß wir nur über die Hauptergebnisse unserer eigenen Untersuchungen in aller Kürze Bericht erstatten wollten, die Literaturbesprechung der ausführlichen Arbeit vorbehaltend. Darum sind auch alle Literaturangaben in dieser Mitteilung ausgeschlossen.

In Hofmeisters Beiträge, Bd. VIII, Heft 5/7 ist jetzt unsere Arbeit erschienen. Hier sieht jeder, der sich hierfür interessiert, daß wir die von Dr. Landsteiner herangezogenen Arbeiten nicht nur ausführlich erwähnt und zitiert haben, sondern daß wir auch die verschiedenen Ausgangspunkte der Landsteiner-v. Eislerschen und unserer Untersuchungen klargelegt haben. Hier ist also von uns hervorgehoben, daß Dr. Landsteiner und Dr. v. Eisler schon vor uns über die Neutralisationswirkung der Aetherextrakte von Blutkörperchen und über die Spezifität dieser Neutralisationswirkung Angaben gemacht haben, ebenso daß diese Angaben in einer Periode erschienen, wo wir schon gegenüber Ochsenblut dieselbe Sache und Meerschweinchenblut-hämolytische Seren gefunden hatten.

Die Bedeutung der Aetherextrakte für die Hämolysinbildung haben dagegen die Herren Landsteiner und v. Eisler experimentell nicht untersucht — wenigstens findet man weder in ihrer Arbeit von 1904, noch in derjenigen von 1905 eine einzige Bemerkung über Parallelversuche, die Neutralisationswirkung und die Hämolysinbildung betreffend; als Anhänger der Ehrlichschen Seitenkettentheorie haben sie übrigens wahrscheinlich solche Untersuchungen für überflüssig angesehen, da sie die neutralisierende und die hämolysinbildende Substanz für identisch halten.

Wenn Dr. Landsteiner jetzt sagt, daß er im Vereine mit Herrn Dr. Dautwitz mit der chemischen Isolierung der hemmenden Lipoide, sowie mit dem Aufsuchen von „Beziehungen der Lipoide zur Hämolysinbildung“ beschäftigt ist, so möchten wir nur hoffen, daß unsere vor schon 5 Monaten erschienene Mitteilung seine neuen Untersuchungen erleichtern möge, da wir doch teils die prinzipiell so wichtige Tatsache der Verschiedenheit der neutralisierenden und der hämolysinbildenden Substanz nachgewiesen, teils die Löslichkeitsverhältnisse der beiden Substanzen besprochen haben.

Daß wir neuer Versuche wegen in unserer ausführlichen Publikation einige Modifikationen unserer früheren Auffassung gemacht haben, beeinflußt weder die oben genannte Prinzipsache noch die Angaben über die Löslichkeitsverhältnisse der Substanzen.

Lund, 25. April 1906.

*Nachdruck verboten.*

## Zur Kenntnis der Immunisierungsverhältnisse der Cholera-vibrionen.

[Aus dem Institut für Infektionskrankheiten in Berlin.]

Von Dr. G. Fichera.

(Fortsetzung.)

Von welcher Bedeutung für die Erzielung hoher Titerwerte und der damit wohl parallel gehenden Immunitätsgrade die Dosierung ist, das geht nicht nur aus meinen mit Cholera-vibrionen an Tieren ausgeführten Versuchen, sondern auch aus den analogen Versuchen am Menschen hervor, welche mit Typhusbakterien ausgeführt wurden und über welche von Gaffky, Kolle, Hetsch und Kutscher berichtet ist. Es wurden zwecks Immunisierung gegen Typhus bei 12 Personen drei Injektionen von 1, 2 und 3 Oesen, bei 6 anderen aber die niederen Dosen, drei Injektionen von  $\frac{1}{30}$ ,  $\frac{1}{15}$ ,  $\frac{1}{5}$  Oese, angewandt. Die Titerveränderung bei den mit kleinen Dosen injizierten Personen war eine außerordentlich geringe, obwohl diese Dosen weit höher waren, als die von Bassenge und Rimpau sowie Friedberger für die Typhus- und Cholera-immunisierung vorgeschlagen waren.

Auf Grund dieser und zahlreicher anderer Versuche, sowie der bei der Immunisierung von Tieren zwecks Serumerzeugung gewonnenen Erfahrungen, wird heutzutage von der Mehrzahl der Immunisatoren die Ansicht vertreten, daß zur Erzielung ausreichenden Impfschutzes große Dosen angewandt werden müssen. Ein Nachteil der Einverleibung großer Mengen abgetöteter Bakterien ist aber die damit verbundene starke Reaktion. Man ist deshalb bemüht gewesen, unbeschadet der Immunisierungskraft die toxischen Stoffe der Bakterien durch entsprechende Maßnahmen zu verringern. Derartige auf Trennung der immunisierenden und toxischen Substanzen gerichtete Bemühungen sind bisher aber nur von geringem Erfolge begleitet gewesen. Es ist deshalb von anderen Autoren, so von Calmette und Salimbeni, Beinrowitsch, Nicolle und Trénel, Rehns, Neisser und Lubowski, Pfeiffer, Pfeiffer und Friedberger, Besredka, Nicolle versucht worden, durch gleichzeitige Heranziehung des homologen spezifischen Serums die Reaktion zu vermindern. Man ist zum Teil so verfahren, daß man Bakterien und Serum getrennt injiziert hat und so die Bindung im Tierkörper vor sich gehen läßt. Andere Autoren haben eine Absättigung der Bakterien mit dem homologen spezifischen Serum *in vitro* vorgenommen und dann die abgesättigten Bakterien den Tieren bzw. Menschen einverleibt. Diese letztere Versuchsanordnung eignet sich zum experimentellen Studium der Frage, und es ist deshalb auch bei den jetzt mitzuteilenden Versuchen die Fähigkeit der mit spezifischem Choleraserum *in vitro* abgesättigten Cholera-vibrionen, Antigene zu erzeugen geprüft worden.

Was die Ergebnisse der von den genannten Autoren angeführten Versuche betrifft, so sind dieselben keine übereinstimmenden; während z. B. Besredka und Nicolle behaupten, daß man auch mit stark abgesättigten Mikroorganismen große Mengen von Antigenen und somit auch wirksame Sera erzielen könne, geben Pfeiffer, Neisser und

Lubowski im Gegensatz dazu an, daß nach der Absättigung im spezifischen Serum die betreffenden Bakterien nur geringe oder gar keine Antikörperbildung hervorrufen.

Die Unterschiede in der von den verschiedenen Autoren angewandten Technik sind erhebliche und wohl zum Teil für die Verschiedenartigkeit der erhaltenen Resultate die Ursache.

Die folgenden Versuche wurden an jungen Kaninchen von 2500 g Gewicht angestellt. Es wurden ihnen je  $\frac{1}{20}$  Kultur schwach und ein anderes Mal stark abgesättigter Vibrionen subkutan injiziert. Ich stellte mir von einem spezifischen Pferdeserum mit dem Agglutinationstiter 1:7000 eine Verdünnung von 1:20 her, von der ich 10 ccm mit einer 24-stündigen Agarkultur mischte und darauf das Gemisch 1 Stunde lang bei Zimmertemperatur schüttelte. Dann wurde die Aufschwemmung zentrifugiert und die Bakterien so lange mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen, bis in der klaren Flüssigkeit keine Agglutinine mehr nachweisbar waren. Nach dem letzten Zentrifugieren wurde das der Kultur entsprechende Sediment in 10 ccm physiologische Kochsalzlösung aufgeschwemmt, 1 Stunde bei 60° C abgetötet und von der homogenen Emulsion je 0,5 ccm =  $\frac{1}{20}$  Kultur den Kaninchen in die Ohrvene injiziert.

Um eine starke Absättigung der Vibrionen mit den spezifischen Stoffen des Serums herbeizuführen, wurde eine Verdünnung des gleichen Choleraserums von 1:3 hergestellt. Von dieser gab ich 3 ccm zu  $\frac{1}{20}$  einer 24-stündigen Agarkultur. Das Gemisch wurde dann 1 Stunde lang bei Zimmertemperatur geschüttelt, zentrifugiert und wieder mit frischen 3 ccm der Verdünnung des Serums versetzt, worauf wiederum 1 Stunde geschüttelt und zentrifugiert wurde. Dasselbe Verfahren wurde noch ein drittes Mal wiederholt. Darauf wurde die Mischung (Serum mit Bakterien) 24 Stunden bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Es wurde dann durch Waschen mit physiologischer Kochsalzlösung eine von Agglutininen freie Zentrifugalflüssigkeit erhalten. Die Vibrionen wurden dann in 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, 2 Stunden bei 60° C erhitzt und darauf Kaninchen mittleren Gewichts in die Ohrvene injiziert.

Zehn Tage nach der Injektion stellte ich den agglutinierenden und bakteriolytischen Titer des Serums fest, die in den Tabellen 21—46 wiedergegeben sind.

Tabelle.

$\frac{1}{70}$ K. 70, 76 abgetötet	Serum-Agglut. 1:1000—1:1500	Bakt. 1:5000
$\frac{1}{20}$ K. 70, 76 schwach abgesättigt, abgetötet	„ „ 1:200—1:500	„ 1:2000
$\frac{1}{70}$ K. 70, 76 stark abgesättigt, abgetötet	„ „ 1:25—1:50	„ 1:500—1:1000

Die Unterschiede sind der Art, daß es ohne Mühe gelingt, daraus zu entnehmen, wie sich die Antikörperbildung gestaltet, je nachdem die Vibrionen nur abgetötet oder auch in stärkerem oder geringerem Maße mit den Antigenen des spezifischen Serums beladen sind. Durch die Bindung des Rezeptorenapparates der Vibrionen an die Antigene wird die Fähigkeit der Bakterien, hauptsächlich Agglutinine zu bilden, in erheblichem Maße herabgesetzt. Dies ist um so mehr der Fall, je stärker das agglutinierende Serum auf die Vibrionen wirkt.

Infolgedessen boten die Tiere, welche mit Bakterien injiziert waren, die nur einmal der Einwirkung des auf 1:20 verdünnten Serums aus-

gesetzt waren, einen reichlichen Antikörpergehalt im Serum, was mit den Resultaten von Rehns, Besredka, Nicolle übereinstimmt, die der Ansicht sind, daß die Fähigkeit der Bakterien, Antikörper zu bilden, durch die Agglutination nur wenig leidet. Bei Anwendung derselben Vibrionenmenge, die aber vorher mehrmals und längere Zeit hindurch mit stark agglutinierendem Serum behandelt worden war, ergab sich im Blut dieser Tiere eine kleinere Antikörpermenge, bei der die Agglutinine so wenig zahlreich waren, daß sie im Kaninchenserum nur in einer Verdünnung 1:25 bis 1:50 agglutinierend wirkten. Diese Resultate stimmen mit denjenigen von Pfeiffer, Neisser und Lubowski überein, die behaupten, daß eine sorgfältig durchgeführte Agglutination, die Fähigkeit der Vibrionenantikörper zu bilden, in erheblichem Maße herabsetzt oder sogar aufhebt.

Besredka begnügte sich mit kleinen Serummengen zur Gewinnung seines Cholera-vaccins, das aus agglutinierten und abgetöteten Cholera-vibrionen besteht. Hier ist es leicht ersichtlich, daß die geringe Menge von Agglutininen unmöglich zur Absättigung der Vibrionen genügen kann. Nicolle injizierte seinen Tieren 1 ccm eines Gemisches, das aus  $\frac{1}{2}$  ccm Typhus-Bouillonkultur und  $\frac{1}{2}$  ccm spezifischen Serums bestand. Nicolle verwandte zwei verschiedene Sera — ein agglutinierendes Kaninchenserum 1:1500 und ein agglutinierendes Eselserum 1:4000. Wurde für die Absättigung der zu injizierenden Typhusbacillen das Kaninchenserum benutzt, so traten im Blut der behandelten Tiere Antikörper in beträchtlicher Menge auf, während sie nach Anwendung des Eselserums fehlten. Nicolle glaubt deshalb, daß das Eselserum durch bakterizide Wirkung die Typhusbacillen im Gemisch auflösen müsse und dies auf diese Weise zur Immunisierung ungeeignet mache. Dies hypothetische bakteriolytische Vermögen des Eselserums vermag er aber durch keinen Beweis zu stützen, viel eher ist aus seiner Arbeit zu entnehmen, daß die mit diesem Serum versetzten Bacillen im mikroskopischen Bild erscheinen, als „immobilisés et souvent altérés, dans leur forme, sans cependant présenter le type de granules, ils semblent se dissoudre peu à peu dans le liquide, qui les baigne“. Nach diesen Worten Nicolles dürfte es wohl kaum annehmbar sein, daß er eine Auflösung der Bakterien mit Sicherheit nachgewiesen hat. Weniger umständlich wäre es wohl gewesen, die Unterschiede, die sich beim Kaninchen- und Eselserum ergeben, dadurch zu erklären, daß dem ersteren ein geringeres Agglutinationsvermögen zukommt.

Im Gegensatz zu den vorhergehenden Autoren fanden Neisser und Lubowski durch Einwirkung spezifischen Pferdeserums vom Titer 1:50000 auf Typhusbacillen, dessen Menge das erforderliche Maß um das 500—1000-fache übertraf, eine Herabsetzung der Antikörperbildung, und sogar bei einer Reihe von 10 Kaninchen dreimal einen absoluten Mangel spezifischer Agglutinine.

Die Ansichten über die Fähigkeit der mit Immunkörpern beladenen Bakterien, Antigene auszulösen, und die Auffassung des Mechanismus, nach dem dies erfolgen soll, sind außerordentlich verschieden, Nicolle und Trénel ziehen den Schluß, daß die Agglutination einer sehr labilen Verbindung von agglutinabler Bakterinsubstanz mit den Agglutininen des Serums entspricht, die im tierischen Organismus zerstört wird. Rehns dagegen, daß der Teil des Bakterienleibes, der als Reizträger für die Antikörperbildung gelten muß, durch die Agglutination abgestumpft wird.

Nachdem Neisser und Lubowski in einigen Fällen den Nachweis einer, wenn auch nur geringen Antikörperbildung geführt hatten, fanden sie in anderen, bei ganz gleich ausgeführten Injektionen derselben Menge von Typhusbacillen, einen reichlichen Gehalt von Antikörpern, woraus sie den Schluß ziehen, daß nur solche Tiere mit Antikörperbildung reagieren, deren Elemente, wenn sie der Produktion spezifischer Stoffe unterworfen werden, die Fähigkeit besitzen, die Bindung zwischen Agglutininen und Rezeptoren zu lösen.

Zur richtigen Deutung des Phänomens erscheint es nun nützlich, die oben erwähnten Versuche einer näheren Prüfung zu unterziehen.

Die Tabellen 31, 34, 41, 43 zeigen die Beschränkung der Antikörperbildung durch die Injektion von Vibrionen, die durch eine fortgesetzte Einwirkung eines hochwertigen Serums stark mit Agglutininen beladen sind.

Da die Menge der gebildeten Agglutinine sich ungefähr im umgekehrten Verhältnis des Absättigungsgrades der Rezeptoren bewegt, scheint mir die Annahme berechtigt, daß unter diesen Bedingungen die Bildung der Antikörper auf diejenigen Rezeptoren zurückzuführen ist, deren Affinitäten nicht abgesättigt waren, die entweder durch ihre geringe Affinität oder durch den Mangel passender Agglutinine im Serum freigeblichen sind.

Wie ich bereits früher dargelegt habe, bedingt die zweckmäßige Anwendung hochwertiger Sera eine fast vollständige Absättigung der Bakterienrezeptoren, so daß die Bildung der Antikörper und speziell die der Agglutinine abnimmt oder auch ganz ausbleibt. Daraus erhellt, daß für den Rezeptorenapparat der Choleravibrionen eine Unterscheidung verschiedener Gruppen: einer antikörperbindenden und einer antikörperbildenden, wie sie Friedberger und Moreschi für den Typhusbacillus annehmen, nicht anhängig ist.

Was nun die Zweckmäßigkeit einer Immunisierung mit abgetöteten und vorher mit geringen Mengen Serum abgesättigten Vibrionen anlangt, so will ich bemerken, daß diese geringe Serummenge naturgemäß auch nur eine geringe Zahl von freien haptophoren Gruppen absättigen kann, so daß man, um ein gleiches Ziel zu erreichen, sich darauf beschränken könnte, die Vibrionenmenge zu verringern.

Die starken und wiederholten Absättigungen dagegen verhindern oder verzögern in erheblichem Maße die Antikörperbildung, indem sie fast alle Rezeptoren der Bacillen mit den spezifischen Stoffen des Serums beladen, und zur Immunisierung ungeeignet machen.

Diese Tatsache ergibt sich auch aus den mitgeteilten aktiven Immunisierungsversuchen (Tabellen 43, 46), die sich auf 12 Meerschweinchen beziehen, von denen 6  $\frac{1}{20}$  abgetötete Kultur des Stammes BI subkutan injiziert bekamen, die 6 übrigen aber die gleiche Menge derselben abgetöteten Kultur, nach vorausgegangener starker Absättigung. Nach 14 Tagen wurde von den 6 ersten Meerschweinchen die eine Hälfte mit zwei Oesen einer Kultur 70, die andere mit zwei Oesen einer Kultur 76 intraperitoneal mit Choleravibrionen injiziert. Alle 6 Tiere blieben am Leben und ließen bei der mikroskopischen Kontrolle eine schnelle und ausgiebige Auflösung der Bakterien in Granula erkennen.

Von den 6 übrigen, die, wie erwähnt, mit  $\frac{1}{20}$  agglutinierten und abgetöteten Kultur BI vorbehandelt waren, blieb nur ein einziges am Leben, nachdem den ersten 3 je eine Oese vom Stamm 76 und den 3 übrigen je eine Oese vom Stamm 76 intraperitoneal injiziert worden war.

Auch diese letzten Versuche bestätigen also das Faktum, das mit stark abgesättigten Vibrionen die Bildung von Antikörpern nur in geringem Maße erzielt werden kann, und daß auch die Tiere in den meisten Fällen nur schwach oder gar nicht immunisiert werden.

Von besonderem, nicht nur praktischem, sondern auch theoretischem Interesse mußte es sein, zu prüfen, wie sich die Cholerastämme und die zugehörigen Sera von Vibrionen der verschiedenen Gruppen, wie sie in der Arbeit von Meinicke, Jaffé und Flemming aufgestellt sind, verhielten.

Wenn die Annahme richtig war, daß es sich nicht um verschiedene Rezeptoren, welche die Verschiedenheit der einzelnen Gruppen bedingten, handelte, sondern um verschiedene Affinitätsgrade bei an sich gleichen Rezeptoren der verschiedenen Stämme, dann mußten in Bezug auf die Antigenerzeugung keine Unterschiede zu Tage treten. Tatsächlich sind, wie aus den Tabellen zu ersehen ist, die Unterschiede nicht erheblich, wenn man heterologe Kulturen, d. h. solche, die verschiedenen Gruppen angehören, mit ein und demselben Choleraserum absättigt. Es sind nämlich — gleichgültig, ob man stark oder schwach absättigt, immer dieselben Rezeptoren, bald in größeren Mengen (bei schwacher Absättigung), bald in geringeren Mengen (bei starker Absättigung) in den Bakterien noch frei vorhanden. Nur die Zahl der Affinitäten wird in verschiedenem Grade verringert sein, je nachdem man ein Serum der homologen oder der heterologen Gruppe benutzt. Bei der Erzeugung der Antigene verwischen sich diese Gruppen bis zu einem erheblichen Grade, oder gar völlig.

Wären die Rezeptoren der einzelnen Cholerastämme verschieden, so würde man in der Antigenerzeugung, wo Stämme heterologer Gruppen benutzt werden, ganz andere Unterschiede erhalten müssen, als sie bisher zu Tage getreten sind. Die Antigenerzeugung müßte bei Absättigung eines Stammes mit dem homologen Serum eine ganz minimale sein oder völlig fehlen, während umgekehrt bei der Absättigung einer heterologen Kultur mit demselben Serum hohe Titerwerte und starke Immunisierungseffekte erzielt werden müßten, wenn die Annahme von einer Verschiedenartigkeit des Rezeptorenapparates zu Recht bestände. Diese Unterschiede traten nicht zu Tage. Die Versuche zeigten vielmehr nur, daß es sich um Unterschiede der Affinitäten der Rezeptoren bei den einzelnen Kulturen handelt.

Kaninchensera mit  $\frac{1}{100}$  Kultur 76, 70, abgetötet hergestellt.

Tabelle 9.  
Kaninchenserum 76.

Stämme	Verdünnungen des Serums					
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:1500
BI	+++	+++	++	++	++	—
GIV	+++	+++	++	++	++	—
GVI	+++	+++	++	++	++	—
74	+++	+++	++	++	++	+
76	+++	++	++	+	—	—
187	+++	+++	++	+	—	—
363	+++	+++	++	++	++	—
70	+++	+++	++	++	++	+
Kontrolle —						

Tabelle 10.  
Kaninchenserum 70.

Stämme	Verdünnungen des Serums					
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:1500
BI	+++	++	++	+	+	—
GIV	+++	+++	++	+	+	—
GVI	+++	+++	++	++	++	—
74	+++	+++	++	++	++	+
76	+++	+++	+	+	—	—
187	+++	+++	++	++	+	—
363	+++	+++	++	++	++	+
70	+++	+++	++	++	++	+
Kontrolle —						



Kaninchensera mit  $\frac{1}{30}$  Kultur 70, abgetötet hergestellt.

Tabelle 11.

Absättigung mit 76, Auswertung gegen alle Stämme.

Stämme	Verdünnungen des Zentrifugenklars					
	1:25	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000
BI	++	—	—	—	—	—
GIV	++	—	—	—	—	—
GVI	++	++	+	++	—	—
74	++	++	+	++	—	—
76	+	—	—	—	—	—
187	+	—	—	—	—	—
363	++	++	+	+	—	—
70	++	++	+	+	—	—
Kontrolle —						

Tabelle 12.

Absättigung mit 70, Auswertung gegen alle Stämme.

Stämme	Verdünnungen des Zentrifugenklars					
	1:25	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000
BI	++	+	—	—	—	—
GIV	++	+	—	—	—	—
GVI	++	++	++	+	+	—
74	++	++	++	+	+	—
76	+	—	—	—	—	—
187	+	—	—	—	—	—
363	++	++	++	+	+	—
70	++	++	+	+	—	—
Kontrolle —						

Kaninchensera mit  $\frac{1}{100}$  Kultur 76, 70, hergestellt abgetötet.

Tabelle 13.

Kaninchenserum 76.

Stämme	Verdünnungen des Serums					
	1:25	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000
BI	+	+	—	—	—	—
GIV	++	++	—	—	—	—
GVI	++	+	+	—	—	—
74	++	+	+	—	—	—
76	++	+	—	—	—	—
187	++	+	—	—	—	—
363	++	++	+	—	—	—
70	++	++	+	—	—	—
Kontrolle —						

Tabelle 14.

Kaninchenserum 70.

Stämme	Verdünnungen des Serums					
	1:25	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000
BI	++	+	—	—	—	—
GIV	++	+	—	—	—	—
GVI	++	+	+	—	—	—
74	++	+	+	+	—	—
76	++	+	—	—	—	—
187	++	+	—	—	—	—
363	++	++	+	—	—	—
70	++	++	+	—	—	—
Kontrolle —						

Kaninchensera mit  $\frac{1}{30}$  Kultur 70, 76, nur abgetötet hergestellt.

Tabelle 15.

Stämme	Verdünnungen des Serums					Kontrolle $\frac{1}{4}$ Oese
	1:500	1:1000	1:2000	1:5000	1:10000	
70	lebt	lebt	lebt	lebt	+	+
76	lebt	lebt	lebt	lebt	+	+

Tabelle 16.

Stämme	Verdünnungen des Serums					Kontrolle $\frac{1}{4}$ Oese
	1:500	1:1000	1:2000	1:5000	1:10000	
70	lebt	lebt	lebt	lebt	+	+
76	lebt	lebt	lebt	lebt	+	+

(Schluß folgt.)

*Nachdruck verboten.***Ueber die Resistenz des Tuberkulins dem Licht gegenüber.**

[Mitteilung aus dem Laboratorium von Finsens med. Lichtinstitut, Kopenhagen.]

Von Privatdozent Dr. med. **Hans Jansen.**

Mit 1 Figur.

Eine große Anzahl Untersuchungen (Mafucci, Koch, Prudden und Hodenpyl, Straus und Gamaleia, Grancher und Ledoux-Lebard, Vismann, Kostenitsch, Bugge, Kelber, Engelhardt, Panow, Sternberg, Klingmüller)<sup>1)</sup> hatten bewiesen, daß Tuberkelbacillen, selbst wenn sie getötet sind, ganz dieselben Gewebsveränderungen wie lebende Bacillen hervorzurufen vermögen. Nach intravenöser Injektion einer Emulsion gekochter Tuberkelbacillen in ein Kaninchen entstehen in den Lungen typische miliäre Tuberkel. Nur bezüglich der Nekrotisierung machen sich verschiedene Ansichten geltend.

Einige (wie Prudden und Hodenpyl, Kelber, Baumgarten) behaupten, daß in den von toten Bacillen gebildeten Tuberkeln keine Nekrose eintritt; andere (wie Straus und Gamaleia, Bugge, Engelhardt, Panow) haben hingegen Nekrose beobachtet.

Das wirksame scheint ein im Bacillenkörper vorhandener Stoff, ein Bakterioprotein, zu sein. Dies geht nicht in die Bouillon über, auf der die Bacillen wachsen (Prudden und Hodenpyl, Straus und Gamaleia), und es ist demnach nicht ein Toxin in demselben Sinne wie die gewöhnlichen Bakterientoxine.

Will man mit diesem spezifisch wirkenden Stoff des Tuberkelbacillus, der also ein Endotoxin ist, Versuche machen, so sind entweder die toten Bacillen selbst oder ein Extrakt derselben zu benutzen. Das Toxin ist bekanntlich gegenüber Erwärmung außerordentlich resistent; es erträgt stundenlanges Kochen und sogar 15 Minuten langes Autoklavieren bei 115°. Die Bacillen lassen sich durch Wärme töten, das Toxin verbleibt jedoch einigermaßen unbeschädigt, und spritzt man z. B. eine Emulsion derart getöteter Tuberkelbacillen intravenös Kaninchen ein, so bilden sich in der Regel — namentlich in den Lungen — zahlreiche miliäre Tuberkel, welche vollständig wie gewöhnliche Milia gebaut sind. Das Tier magert ersichtlich ab und kann bei passender großer Dosis nach 3–4 Wochen in exzessivem Marasmus sterben. Nach Straus und Gamaleia wird dies bei Injektionen einer Emulsion eintreten, welche durch Ausreiben von 0,02 g Bacillen (im trockenen Zustande gewogen) mit 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung zubereitet ist. Es ist bei dieser Tuberkulose — oder Nekrotuberkulose, wie Grancher und Ledoux-Lebard sie nennen — nur das Eigentümliche, daß sie nicht propagiert; es werden nur da Tuberkel gebildet, wo die injizierten Bacillen anhaften, und die Tuberkel zerfallen, wie gesagt, nicht in die typischen käsigen Massen.

Diese Eigenschaft beim Toxin des Tuberkelbacillus, „kochfest“ zu sein, steht im Widerspruch zu denen der gewöhnlich studierten Toxine, wie z. B. des Diphtherietoxins, indem diese in hohem Grade labil sind

1) Literatur am Schlusse alphabetisch geordnet.

Tabelle I. Belichtung ge-

Die Behandlung der Bacillen vor dem Impfen			
Die speziellen Verhältnisse in den verschiedenen Versuchsserien	Portion No.	Das Kochen	Die Belichtung
Reihe 1 17. Febr. 1903 * Die Bacillen von 2 Bouillonkulturen (2 Monate alt) * 3 Portionen * Das Gewicht jeder Portion in halbtrockenem Zustande 0,04 g	1	5 Minuten autoklaviert. 115°	1½ Stunde in 0,3 mm dicker Schicht belichtet (½ Stunde von der einen Seite und ½ Stunde von der anderen)
	2	5 Minuten autoklaviert. 115°	Nicht belichtete Kontrolle
	3	Nicht autoklaviert (also lebende Bacillen)	Nicht belichtete Kontrolle
Reihe 2 28.—29. Jan. 1904 * Die Bacillen von 3 Bouillonkulturen (1½ Monate alt) * 2 Portionen * Das Gewicht jeder Portion in trockenem Zustande 0,025 g	1	10 Minuten autoklaviert. 115°	2 Stunden in einer 0,3 mm dicken Schicht belichtet (1 Stunde von der einen Seite u. 1 Stunde von der anderen)
	2	10 Minuten autoklaviert. 115°	Nicht belichtete Kontrolle
Reihe 3 18.—21. April 1904 * Die Bacillen von 4 Bouillonkulturen (1 Monat alt) * 4 Portionen * Das Gewicht jeder Portion in trockenem Zustande 0,09 g	1	In 2 aufeinanderfolgenden Tagen ½ Stunde im Dampfsterilisator gekocht	2 Stunden in einer 0,3 mm dicken Schicht belichtet (1 Stunde von der einen Seite und 1 Stunde von der anderen)
	2	In 2 aufeinanderfolgenden Tagen ½ Stunde im Dampfsterilisator gekocht	1 Stunde in einer 0,5 mm dicken Schicht belichtet
	3	In 2 aufeinanderfolgenden Tagen ½ Stunde im Dampfsterilisator gekocht	Nicht belichtete Kontrolle
	4	Nicht gekocht (also lebende Bacillen)	Nicht belichtete Kontrolle
Reihe 4 25.—27. April 1904 * Die Bacillen von 4 Kartoffelkulturen (1½ Monate alt) * 4 Portionen * Das Gewicht jeder Portion in trockenem Zustande 0,06 g	1	In 2 aufeinanderfolgenden Tagen ½ Stunde im Dampfsterilisator gekocht	2 Stunden in einer 0,3 mm dicken Schicht belichtet (1 Stunde von der einen Seite und 1 Stunde von der anderen)
	2	In 2 aufeinanderfolgenden Tagen ½ Stunde im Dampfsterilisator gekocht	Nicht belichtete Kontrolle

1) Diese recht großen Portionen (0,09 und 0,06 g) mußten in zwei Hälften geteilt Portion in der betreffenden Schichtdicke sonst ein größeres Gebiet als den Lichtfleck

## echter Tuberkelbacillen.

## Intravenöses Impfen auf Kaninchen

kaninchen be- zeich- nung	Gewicht	Resultate
. 10	2040	† 24. Tag. — Gleichmäßige Abnahme des Gewichtes auf 1800 g. Marasmus. — Sektion: Keine Glandelgeschwulst. Die Abdominalorgane natürlich, abgesehen von einer etwas vergrößerten Leber. — Ca. 50 g blutige seröse Flüssigkeit in Pleurae. Die Lungen graulich, hepatisiert, mit weißen, <b>hirsekorngroßen Körnchen</b> übersät. — Mikroskopie: Siehe Text.
. 9	2070	31. Tag getötet. — Gleichmäßige Abnahme des Gewichtes auf 1650 g. Marasmus. — Sektion: Keine Glandelgeschwulst. Die Abdominalorgane scheinen normal. Kein Exsudat in Pleurae. Die Lungen grau, nur etwas hepatisiert, mit weißen, <b>hirsekorngroßen Körnchen</b> übersät. — Mikroskopie: Siehe Text.
. 8	2460	31. Tag getötet. — Geringe Abnahme des Gewichtes auf 2270 g. Recht flink. — Sektion: Keine Glandelgeschwulst. Die Leber leicht vergrößert, hie und da suspekthe Körnchen. Die Milz vergrößert, mit 2 hanfkorngroßen Tuberkeln. Kein Pleuraeexsudat. Die Lungen nicht hepatisiert, rötlich-grau, aber mit weißen, <b>hirsekorngroßen Körnchen</b> übersät. — Mikroskopie: Siehe Text.
. 36	2570	† 30. Tag. — Bis 3 Tage vor dem Eintreten des Todes gesund. — Sektion: Eine heftige fibrinöse, purulente Peritonitis. Anscheinend keine Tuberkulose in den Organen. — Mikroskopie: Siehe Text.
. 35	2340	32. Tag getötet. — Gleichmäßige Abnahme des Gewichtes auf 1890 g. Marasmus. — Sektion: Keine Glandelgeschwulst. Die Abdominalorgane anscheinend gesund. Die Lungen graublaß, die obersten Lappen hepatisiert mit undeutlichen <b>Milia</b> . — Mikroskopie: Siehe Text.
. 48	1700	† am Tage darauf.
K. 47	1700	† 30. Tag. — Gleichmäßige Abnahme des Gewichtes auf 1330 g. Marasmus. — Sektion: Keine Glandelgeschwulst. Die Abdominalorgane anscheinend gesund. Kein Exsudat in Pleurae. Die Lungen graulich, überall mit dichtstehenden feinen, weißen, <b>hirsekorngroßen Körnchen</b> übersät.
K. 46	1970	† 29. Tag. Gleichmäßige Abnahme des Gewichtes auf 1400 g. Marasmus. — Sektion: Keine Glandelgeschwulst. Die Abdominalorgane anscheinend normal. — Geringe Menge seröse Flüssigkeit in Pleurae. — Fibrinbeläge auf den Lungen. Diese sind übrigens mit feinen, weißen, <b>hirsekorngroßen Körnchen</b> übersät, namentlich in den oberen Lappen, während die unteren wesentlich normal waren. — Mikroskopie: Siehe Text.
K. 45	1700	† 9. Tag. — Die ganze Zeit seit der Impfung krank. Gewicht 1380 g. — Sektion: Keine Glandelgeschwulst. Die Leber vergrößert und mit feinen, weißen Körnchen etwas unregelmäßiger Form übersät. — Die Milz leicht geschwollen, mit feinen <b>Milia</b> . — Die Lungen kolossal verändert, mit weißen, <b>hirsekorngroßen Körnchen</b> , welche nach unten in den Lungen zu einer zusammenhängenden weißen Masse konfluieren. — Mikroskopie: Siehe Text.
K. 52	1600	34. Tag getötet. — Nach einer gleichmäßigen Abmagerung auf 1400 g war eine Zunahme des Gewichtes auf 1650 g erfolgt. — Sektion: Hie und da in den Lungen ließ sich gerade eine feine miliare Aussaat ahnen; sonst keine sichtbaren Veränderungen. — Mikroskopie: Siehe Text.
K. 51	1950	34. Tag getötet. — Das Gewicht hielt sich einigermaßen unverändert; beim Tode 2100 g. — Sektion: Keine für das bloße Auge sichtbaren Veränderungen. — Mikroskopie: Siehe Text.

werden, welche jede für sich in der angegebenen Zeit belichtet wurde, da die ganze ausfüllen würde.

und nicht nur durch Wärme, sondern auch durch Licht leicht zerstört werden.

Aus den verschiedenen Toxinarbeiten, wie aus einigen speziellen Lichtuntersuchungen (Tizzoni und Cattani, Fermi und Celli, Hertel, Jodlbauer und Tappeiner) geht hervor, daß die gewöhnlichen Toxine (spezielles Diphtherietoxin) stark vom Licht beeinflusst und bei genügend intensiver Belichtung gänzlich zerstört werden.

Es würde nun von besonderem Interesse sein, zu untersuchen, wie sich das Toxin des Tuberkelbacillus verhält, ob es ebenfalls vom Licht zerstört wird oder ob es, ebenso wie es kochfest ist, vielleicht auch „lichtfest“ ist.

Wie mir bekannt, liegt bezüglich dieser Frage nur eine einzelne Beobachtung, nämlich von Straus und Gamaleia, vor. Sie exponierten eine Tuberkelbacillenkultur dem Sonnenlicht 5 Tage lang; die Bacillen waren dann getötet, jedoch erwiesen sie sich, intravenös einem Kaninchen eingespritzt, ebenso wirksam wie die durch Wärme getöteten.

(Schluß folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Bemerkungen zu dem Aufsatz von Gloger: „Kalium tellurosum in der Medizin und Hygiene“.

Von B. Gosio (Rom).

(Schluß.)

Auch für die spezifische von Maassen extrahierte reduzierende Substanz handelt es sich, wie es scheint, um einen enzymatischen Prozeß. Es existieren keine analytischen Daten, welche die Gegenwart von aktivem Schwefel beweisen: wie könnte man also eine Sulforeduktion und eine Bildung von Sulfit annehmen?

Mit den vorstehenden Bemerkungen, denen ich verschiedene andere hinzufügen könnte, will ich nicht absolut die Möglichkeit ausschließen, daß unter gewissen Umständen in den Mikrobekulturen auch vermittelt des im Gärungsprozeß entwickelten Schwefelwasserstoffes eine Reduktion hervorgebracht werden könne. Ich habe dies sogar in meiner Arbeit schon implicite zugegeben, indem ich die Möglichkeit nicht ausgeschlossen habe<sup>1)</sup>, daß besondere mit Reduktionsvermögen begabte Gärungsprodukte (Aldehyde, Ketone u. s. w.) ihrerseits die Reduktion des Tellurits hervorzubringen oder zu steigern im stande sind. Es scheint mir jedoch unter keinen Umständen gerechtfertigt, dem Schwefelwasserstoff und anderen Gärungsprodukten eine hervorstechende Rolle in der Entwicklung des Phänomens zuzuschreiben. In Beziehung auf das parallele Vorkommen der beiden Erscheinungen (Erzeugung von Schwefelwasserstoff und Reduktion von Tellurit), ein Zusammentreffen, das auf Gloger einen solchen Eindruck macht, daß er ohne weiteres dazu geführt wird, von Ursache und Wirkung zu sprechen, bemerke ich einfach, daß beide Phänomene von einem einzigen biologischen Faktor abhängen können, nämlich von einer Reduktase, von der die Mikroorganismen eine mehr oder weniger große Menge besitzen und welche eine energische Wasser-

1) Loc. cit. p. 76.

stoff erzeugende Wirkung auf verschiedene Körper wie S, Methylenblau, Selenite, Tellurite, auszuüben im stande ist. Wenn diese verschiedenen Körper gleichzeitig der Reduktase ausgesetzt sind, so ist es natürlich, daß sich die Wirkung der letzteren auf alle erstreckt und sich alle die verschiedenen Erscheinungen ergeben, durch welche die stattgehabte Reduktion ausgedrückt wird.

\*       \*       \*

Schließlich haben wir es mit einer Frage einer rein praktischen Abschätzung zu tun, nämlich derjenigen, die sich auf die Anwendbarkeit der Tellurite, auf die Medizin und Hygiene bezieht. Ich möchte mich aber vor allen Dingen dagegen wahren, daß Gloger mir mehr, als was mir gehört, beilege. Ich bin weit entfernt davon, zu behaupten, daß die Tellurite in allen Fällen, in denen das Urteil über die Sterilität und der Nachweis irgend eines Mikrobenlebens ein Interesse besitzt (Prüfung von Konserven, Kontrolle der Funktion von Filtern und der Sterilität der Kulturen, Kontrolle der Desinfektionsmittel, Bestimmung der Bakteriuriae, Unterscheidung von Bakterien u. s. w.) anzuwenden sind. Allerdings habe ich eine aprioristische Andeutung<sup>1)</sup> auf verschiedene praktische Fälle gemacht, in denen wir „praktische Vorteile von der mikrobiologischen Reaktion auf die Tellurite erwarten dürfen“; jedoch habe ich gleich darauf die Notwendigkeit hervorgehoben, „die Anwendbarkeit für jeden besonderen Fall eingehender zu rechtfertigen, vermittelst einer Reihe darauf bezüglichen Untersuchungen, aus denen die Art, wie man zu verfahren hat, genau hervorgeht“.

Ohne Zweifel muß man, wenn die Frage ganz allgemein gestellt wird, auf nicht wenige Fälle von Inkompatibilität gefaßt sein, d. h. daß infolge der Gegenwart chemischer reduzierender Substanzen oder solcher, die dem Leben der Keime ungünstig sind, oder infolge verschiedener Umstände, welche die Funktion des Indikators verhindern oder vortäuschen, dieser letztere keine Anwendung finden kann. Alle diese Fälle sind an mehreren Stellen meiner Arbeiten von mir vorgesehen. Darum hat Gloger durchaus recht, wenn er sagt, daß sich das Kalium tellurosum „nicht zu allen verschiedenartigen Zwecken gut anwenden läßt“ und ferner, daß sich „die Prüfung der Sterilität der Nährböden und der Mittel zu subkutanen Injektionen durch Zugabe von Kalium tellurosum-Lösung nicht immer bewerkstelligen läßt“.

In dieser Beziehung habe ich mich davor in Acht genommen, die Chemikalien, die auf hypodermischem Wege angewendet werden, zu zitieren, da ich wohl weiß, daß man es hier manchmal mit Verbindungen, die, ihrer Natur nach, auf das Tellurit einwirken, oder die Entwicklung der Keime behindern können, zu tun hat. Für solche Fälle jedoch bietet im allgemeinen die Sterilisation bei der Hitze eine hinlängliche Garantie; dieser kann man sich fast immer bedienen, ohne daß die in den Flaschen enthaltenen Arzneien alteriert werden. — Der Punkt, wo wir uns bis jetzt ohne eine wirksame Hilfe befinden, liegt in dem Fall der Sera und Vaccins vor; auf diese sind die angegebenen radikalen Mittel, welche den bei den vielen Handhabungen der Vorbereitung etwa stattgehabten Verunreinigungen abhelfen könnten, unanwendbar. Darum habe ich mich in

1) Zeitschr. f. Hygiene. Bd. LI. p. 111.

meinen Arbeiten auf die Sera und die toten Vaccine, die schon so viele bedauernswerte Fälle hervorgerufen haben und ein in der Medizin so nützliches Prinzip in Mißkredit bringen, beschränkt.

Was nun die Vaccins betrifft, so freut es mich, bei Gloger zu lesen, „die nach Kolle vorbereitete Vaccine hat, mit Kalium tellurosum zusammengemischt, keine Reaktion ergeben; die letztere trat aber ganz deutlich hervor, wenn die Vaccine ungenügend sterilisiert wurde, oder wenn man der sterilen Vaccine 1 Oese Reinkultur der cholerischen Vibrionen beigemischt hat“; und, als Schlußfolgerung, daß „Kalium tellurosum in der Medizin seine Anwendung finden kann, als Zugabe zu Vaccinen, als Indikator, der oft unerwünschte Aenderungen entweder unter dem Einfluß der Bakterien oder ohne deren Teilnahme anzeigt“.

Diese Behauptungen entsprechen durchaus den praktischen Folgerungen, auf welche meine Versuche mich hingeführt haben. Weiter ausgedehnte Versuche über die technischen Vervollkommnungen und über die Vorsichtsmaßregeln, um die Anzeigen des Indikators noch sicherer zu machen, werden nächsten erscheinen.

In Hinsicht auf die therapeutischen Sera spricht Gloger von keinen von ihm ausgeführten Experimenten. Aus den unserigen geht hervor, daß das Tellurit bei den Sera vielleicht noch mehr ausschlaggebend ist als bei den Vaccins, bei denen die Bakterienkörper in einigen Fällen, auch wenn sie tot sind, schwache Reaktionen hervorbringen können<sup>1)</sup>. Ferner ist es möglich, Sera und Vaccins vermöge besonderer Kunstgriffe für die Funktion des Indikators weit empfänglicher zu machen, als sie es ihrer Natur nach sind. Dies habe ich zum Teil schon nachgewiesen, und wird aus nächsten zu veröffentlichenden neuen Arbeiten über ausgedehntere in meinem Laboratorium angestellte Untersuchungen noch klarer hervorgehen.

Lange Zeit hindurch habe ich bezweifelt, daß der Indikator, unabhängig von Bakterien, seine Funktion ausführen könne, wegen der reduktiven Säfte (aseptische Reaktionen), die eventuell im Blut vorhanden sind. Auf den Gedanken an eine solche Gefahr führen unter anderem die Arbeiten von Bial<sup>2)</sup>, Röhman<sup>3)</sup>, Cavazzani<sup>4)</sup>, Otto<sup>5)</sup>, Manzini<sup>6)</sup> u. a., die von normalen Diastasen und Fermenten des Blutes und der Lymphen sprechen.

Die mit dem Serum von drei Pferden, einem Kalbe und einer Ziege angestellten Versuche haben dieser Hypothese widersprochen. Aber es ist evident, daß man, bevor man in dieser Beziehung eine vollkommene Garantie besitzt, weit über die Grenzen einer Laboratoriumsuntersuchung hinausgehen muß. Wenn es sich also im Verlauf der Praxis ergeben sollte, daß ein Serum das Tellurit in häufigen Fällen aus sich selbst reduziert, so würde das in den Indikator gesetzte Vertrauen sich verlieren, oder bedeutend beschränkt werden. Bis jetzt ist diese Mög-

1) In der Tat erfolgt diese Reduktion zögernd und könnte auch ein gutes Kriterium für die Ueberwachung bilden, um die alt gewordenen und weniger aktiven Produkte auszuschließen. — In diesem Fall muß die Praxis über die Zweckmäßigkeit entscheiden.

2) Pflügers Archiv. Bd. LII—LIII.

3) Ibid. Bd. LII.

4) Arch. scienze mediche. Bd. XVII.

5) Malys Jahrb. Bd. XIV.

6) Arch. farmacolog. speriment. Vol. IV.

lichkeit nicht hervorgetreten<sup>1)</sup>. Ich besitze Proben von Sera, die seit länger als 15 Monaten mit Kalium tellurosum unter aseptischen Bedingungen in Kontakt stehen, welche nicht die geringste Bräunung zeigen, während analoge Proben, nachdem sie kurze Zeit hindurch dem atmosphärischen Staub ausgesetzt waren, den charakteristischen schwarzen Niederschlag (Anzeichen einer Mikrobenentwicklung) bewahren.

Gloger jedoch, obwohl er annimmt, daß „Kalium tellurosum in der Medizin seine Anwendung als Indikator der oft unerwünschten Aenderungen finden kann“, sagt, daß dasselbe „nicht so sicher ist, daß es Phenol oder anderes Antiseptikum in den Vaccinen ersetzen könnte“. Um dies behaupten zu können, müßte Gloger beweisen, daß Phenol und andere Antiseptica, in der gewöhnlich bei Sera und Vaccins angewendeten Dosis, eine wirkliche Garantie der Sterilität bieten. Nun erweisen nicht nur das wissenschaftliche Kriterium, sondern schon Hunderte von bedauernswerten Fällen die Absurdität einer solchen Behauptung<sup>2)</sup>. — Wenn man von Sterilität sprechen darf, so ist diese fast immer eine Frucht der aseptischen, bei der Zubereitung, genau befolgten Methode. Bei diesem Sachverhalt muß man natürlich ein System mißbilligen, welches für manche Unternehmer nützlich sein mag, insofern es ihnen ein Mittel gewährt, um technische Irrtümer zu entdecken und eine Ware besser zu konservieren, die in Verderbnis übergehen könnte; aber für die Impflinge gefährlich ist, weil es den praktischen Nachweis einer Verunreinigung verhindert, ohne einen Schutz zu bieten. Uebrigens habe ich weder Schuld noch Verdienst, wenn in einigen Instituten die hygienische Vorschrift herrscht, sich auf die reine und strenge Asepsis zu beschränken, indem man alle jene Produkte verwirft, die durch etwaige technische Unvollkommenheiten sich für den praktischen Gebrauch als ungeeignet erwiesen haben. Einem solchen Verfahren gegenüber, welches ich für durchaus rationell erachte, weil die Haut unseres Körpers nicht allein von den Chirurgen respektiert werden soll, schlage ich vor, die Kontrolle der Asepsis mit Hilfe eines biologischen Mittels zu erleichtern, da mir das von der Trübung allein abgeleitete Kriterium allzuvielen Zweideutigkeiten ausgesetzt zu sein scheint. Ich habe ferner erwiesen, daß unter allen bis jetzt bekannten Indikatoren die alkalischen Tellurite einen besonderen Vorteil gewähren. Aber, sagt Gloger, das Tellurit ist nur im stande, eine große Anzahl von Aëroben und Anaëroben zu entdecken, jedoch nicht alle, und führt als großen Widerspruch den *B. tuberculosis* an, einen Keim, der, wie bekannt, ganz besonderer Pflege bedarf, um sich zu entwickeln, der unter gewöhnlichen Bedingungen (Staub) immer mit anderen Mikroorganismen zusammen vorkommt, ja den man oft, trotz aller Sorgfalt, von den ihn begleitenden Keimen kaum zu befreien vermag. Diese und ähnliche Ausstellungen beschränken die Anwendung des Tellurits nicht über die von mir gestellten Grenzen hinaus: a) weil die große Mehrzahl der Bakterien auf diese Verbindung reagiert, b) weil sich unter der großen Mehrheit die gewöhnlichen Pyogenen und der *B. tetani*

1) Auch in Betreff der Milch, welche als die an Enzymen reichste physiologische Flüssigkeit betrachtet wird, kommt Seligmann zu dem Schluß, daß Superoxydase und Reduktase in der Milch zu den geformten Fermenten gehören müssen: sie sind Aeußerungen bacillärer Lebenstätigkeit. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. LII. 1906. Heft 2. p. 161.)

2) Die Gelatine, welche 1900 in Rom viele Tetanusfälle verschuldet hat, enthielt 3 Proz. Phenol!!!



befinden, welche in der Praxis der Injektionen die nächste und größte Gefahr darstellen<sup>1)</sup>, c) schließlich weil, wie schon im Anfang hervor gehoben, unser Zweck in dem Nachweis gewöhnlicher Verunreinigungen besteht, sich aber nicht auf Reinkulturen dieses oder jenes pathogenen Keimes erstreckt.

Ohne Zweifel kann man vor der Hand nicht sagen, daß das Kalium tellurosum den Namen eines idealen Indikators verdiene: gerade deshalb habe ich am Schluß meiner Arbeit, nach Auseinandersetzung der Prinzipienfrage, die Möglichkeit angenommen und erwünscht, daß sich „irgend eine andere Substanz, die den verschiedenen praktischen Anforderungen noch besser entspreche, finden möge“.

Es ist jedoch nicht erforderlich, den guten Boden zu zerstampfen, weil der beste mangelt. In dieser Beziehung machte es mir Vergnügen, zu lesen, daß Gloger, bevor er noch meinen Arbeiten begegnet ist (d. h. unabhängig von mir), lange Zeit und hauptsächlich mit dem Kalium tellurosum gearbeitet und sogar seine Unschädlichkeit selbst bei einer Dosis von 1:25000 konstatiert hat. — Dies liefert jedenfalls den Beweis dafür, daß dieser Verbindung keine ganz gewöhnliche Stelle zukommt und daß sie nicht Bleiacetat, Lackmus, Eisenchlorid u. s. w. gleichzustellen ist.

Nachdruck verboten.

## Culture du *Treponema pallidum* de Schaudinn.

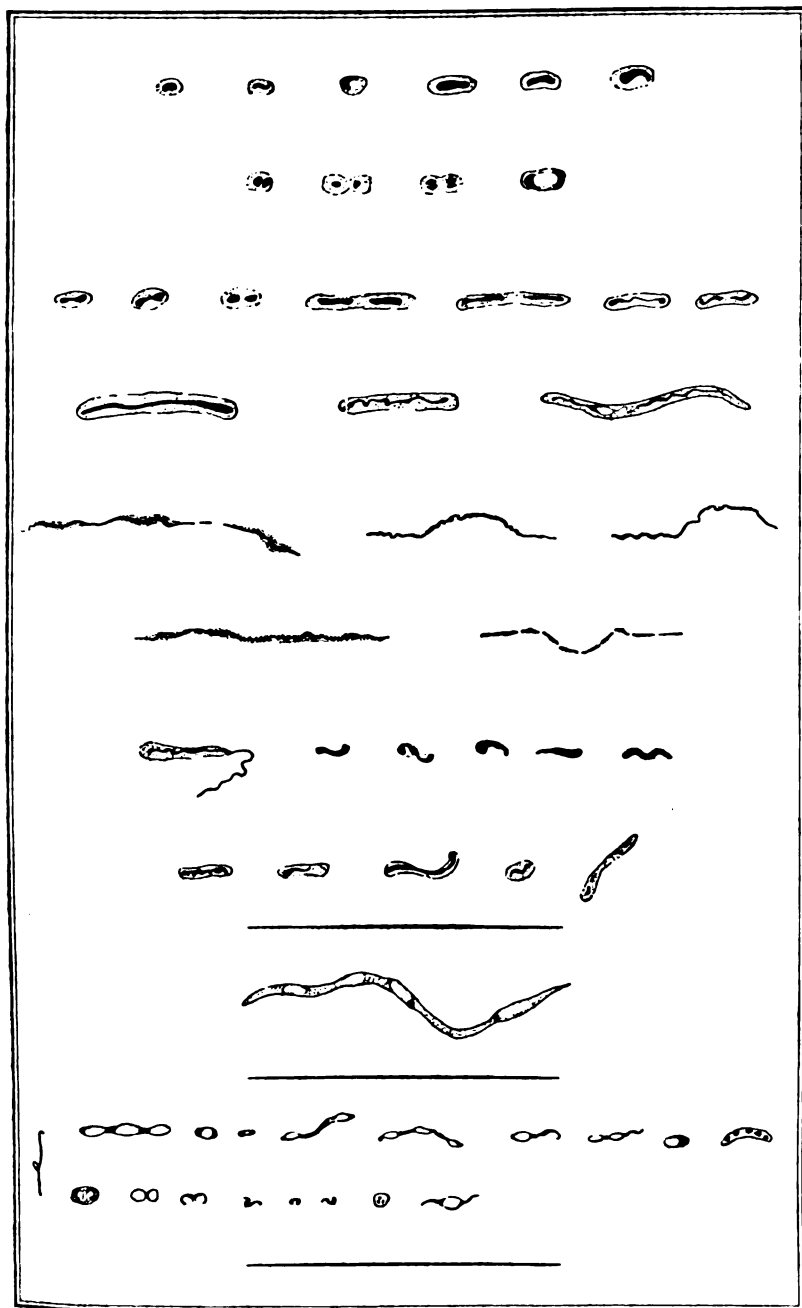
Par Dr. C. Leuriaux et Dr. V. Geets  
du laboratoire de l'Institut St. Anne à Bruxelles.

Avec figures.

Jusqu'à présent toutes les tentatives faites dans le but d'obtenir des cultures du micro-organisme que l'on considère comme étant l'agent étiologique de la syphilis ont échouées. Nous avons réussi néanmoins en partant de produits syphilitiques recueillis aseptiquement à cultiver un spirochaete qui n'arrive à ce stade morphologique qu'après avoir passé par une série de transformations non encore décrites jusqu'à ce jour. Il dérive d'un élément globuleux ou ovalaire qui correspond comme forme et comme dimensions aux *Cytorrhycles luis* de Siegel, passe par un stade qui se rapproche du trypanosome et n'atteint la forme treponema qu'après une nouvelle série de modifications. Le treponema semble être le résultat de la multiplication agame du macrogamete, représenté par le stade trypanosome. Pourquoi ce stade trypanosoma n'est il pas observé directement dans les liquides et les tissus syphilités? Question de milieu probablement qui réduit la gaine protoplasmique à une épaisseur suffisamment minime pour défier la différenciation par les colorants et parties optiques.

Nous sommes partis du liquide encéphalo rachidien recueilli avec l'asepsie la plus rigoureuse et avons mis celui-ci à l'étuve à 37° après l'avoir mélangé au préalable avec du bouillon peptonisé neutre dans les proportions du 1 partie pour 2 de liquide encéphalo-rachidien. Après une incubation de 3 à 4 jours le liquide reste clair mais un examen

1) Diese Keime befinden sich nach Gloger unter denjenigen, welche die stärkste Reaktion auf die Tellurite zeigen.



direct en gouttelette suspendue fait remarquer la présence de corpuscules excessivement ténus qui sont animés de mouvements rapides et saccadés. Chez certains d'entr'eux il semble qu'il se produit un mouvement d'extension rapide suivi d'une contraction plus lente.

Ce liquide est centrifugé pendant 20 minutes, et le liquide clair est aspiré à la pipette et le léger précipité ensemencé sur sérum de porc solidifié. Au bout de 3 à 4 jours il apparaît à la surface du milieu une culture sans apparence nette de colonie mais sous forme d'un enduit d'un blanc ivoirin, humide, gluant, filant quand en la cueille avec l'anse de platine. La culture ne jaunit pas, se laisse repiquer, quelques fois jusqu'après 20 jours de séjour à l'étuve. La culture ne s'obtient pas sur les milieux habituels.

Elle répand une odeur fortement alcaline. Le liquide encéphalo-rachidien fut pris chez des syphilitiques à la période secondaire. Sur 42 ponctions lombaires nous avons obtenu 3 fois la culture typique, dont les préparations ont été similaires et dont le détail d'observation suit; 1 fois le milieu fut contaminé par un micro-organisme vulgaire de la peau et 38 fois les milieux de culture restèrent complètement stériles. Il se développe également sur sérum liquide de porc. Le liquide ne se trouble que légèrement. Les éléments figurés que l'on y rencontre sont identiques à ceux que l'on observe dans les cultures sur milieu solide.

### Examen des préparations.

Une préparation en frottis prélevée d'une culture âgée de 4 à 5 jours, colorée au Giemsa, montre un nombre très-grand de micro-organismes dont les dimensions et les formes varient dans des limites considérables.

Les éléments qui dominent toutefois dans cette culture jeune sont ovalaires, colorés en rouge violacé par le Giemsa et le Leishman. et présentent un ou des noyaux prenant très fortement le colorant. Ces noyaux sont violets foncés presque noirs.

La gaine protoplasmique qui les entoure est presque sphérique chez les éléments de moindre taille, ovulaire dans le plus grand nombre des cas, fortement allongée chez les individus les plus grands. Dans ce cas la coloration est moins dense et l'enveloppe protoplasmique est d'un rose pâle, quelquefois même bleu pâle.

Le noyau quand il est unique peut avoir l'apparence d'un bâtonnet droit ou légèrement incurvé, la substance nucléaire peut être accolée à une partie de l'enveloppe, limiter une sphère claire soit au milieu soit à une des extrémités du micro-organisme. Le noyau d'autre part peut s'étranger par le milieu et l'élément devient polynucléaire. On parvient à compter quatre noyaux distincts chez certains d'entre eux. Le noyau peut encore avoir une forme irrégulière, incurvée, présentant un épaississement globulaire à une ou deux extrémités; il prend alors la forme caractéristique de la virgule. Les dimensions de ces éléments varient entre le quart et le tiers du diamètre d'un erythrocyte normal, soit le  $1\ \mu\ 5$  à  $2\ \mu\ 5$ .

Ces éléments correspondent comme dimensions et comme description aux cythorocytes Siegel (Münch. med. Wochenschr. 1905).

Les colorants que nous avons employés Giemsa et Leishman ne mettent pas en évidence les flagella notés par cet auteur.

Dans une culture âgée de 6 à 7 jours, on retrouve encore les mêmes éléments, mais on remarque la présence d'éléments beaucoup plus longs, toujours différenciés en gaine protoplasmique et substance nucléaire.

Le noyau prend ici un intérêt prépondérant, en remarque en réalité qu'il est devenu en même temps plus long et plus fin. Il présente des ondulations qui vont de l'incurvation légère jusqu'aux spires plus fines. Chez certaines formes longues de  $15\ \mu$  la gaine protoplasmique

épaisse contient un filament de chromatine tout droit, sans apparence de nucléoles ou d'épaississements, qui ne rapelle en rien le spirochaete typique. La chromatine qui le constitue semble être gonflée.

Par contre, si la forme précédente est rare, les éléments qui contiennent des spirilles ont la majorité des formes observées. Ils peuvent être très courts, n'avoir guère plus de  $2\mu$  et ne former qu'un tour de spire, ou en forme d'S ou de crochet.

Dans les formes les plus allongées, on étudie aisément la structure du filament spirillaire. Il est mince, ondulé offrant des épaississements soit en forme de noeud, soit aux extrémités du filament.

D'autres fois encore on observe sur le trajet spirillaire une formation vésiculeuse en tout points semblables au blepharoblaste des trypanosomes.

Parfois, en se trouve en présence de filaments ayant plusieurs dizaines de micro en longueur; dans ce cas la gaine protoplasmatiche a quasiment disparu et on semble se trouver en présence de plusieurs spirochaetes placés bout à bout, reliés ou non par une gaine protoplasmatiche. On saisit aussi le moment où le spirille semble quitter sa gaine de protoplasme et l'élément prend la forme d'un protozoaire flagellé.

Dès que les spirilles sont libres, ils se colorent moins bien qu'à l'intérieur du corps cellulaire et prennent une teinte rose. Ils sont effilés aux extrémités, à ondulations aisées et larges, peuvent être réunis parallèlement ou placés bout à bout de façon à former un filament à parties plus épaisses se tenant par des extrémités à peine perceptibles.

Ces dernières formes ont été observées par Krzyształowicz et Siedlecki et décrites dans leur étude de l'évolution du *Spirochaete pallida* in vivo. Ces auteurs considèrent ces formes comme des stades de multiplication longitudinale pendant la période agame de la reproduction (Bull. Acad. Sciences de Cracovie 1905, 1906.) La dernière particularité que l'on note, ce sont des différentes formes nucléaires décrites mais dépourvues de toute gaine protoplasmatiche. Nous nous trouvons donc en présence de bâtonnets fortement colorés, d'inégale épaisseur, simplement incurvés ou ondulés, parfois vésiculeux et terminés par des filaments, contournés en forme de crochet ou d'S, représentant le spirochaete réduit à un volume minimum, mais non effilé et d'épaisseur plus considérable.

Résumant et interprétant ces différentes observations en nous appuyant sur les travaux de Schaudinn, Krzyształowicz, Siedlecki, Siegel, nous croyons prouver que le spirochaete pâle s'est qu'un aspect de sa vie de protozoaire. Il dérive d'éléments de repos de spores sphériques ou ovalaires qui par la transformation des sporozoïdes intéressant le protoplasme et le noyau, suivent deux évolutions parallèles, l'une tendant vers le stade trypanosome à enveloppe protoplasmatiche, l'autre vers la forme réduite à la substance nucléaire.

La première évolution aboutirait par multiplication agame au *Treponema pallidum* et comprendrait le stade macrogamète femelle; les éléments petits, ayant perdu de prime abord toute réserve protoplasmatiche représenteraient le microgamète ou mâle, capable à son tour de reproduction spontanée par scissiparité. Dans ce cas quand des milieux de culture appropriés auront définitivement établi notre manière de voir la création du genre *Treponema* (Schaudinn 26 Octobre 1905) dont jusqu'à présent *Treponema pallidum* est l'unique type connu, n'aura plus de

raison d'être et le spirochaete pâle reprendra sa place dans le sous ordre trypanozomidae (Döflein 1901).

En dehors de ces formes qui semblent résumer toutes les phases évolutives du treponema nous avons, également trouvé les formes décrites par Krzysztalowicz et Siedlecki et qu'ils avaient trouvés dans la liquide séreux extrait des vésicules produites sur une papule sèche par une légère cautérisation. Ce sont des organismes d'une longueur et d'une épaisseur considérable comparativement aux micro-organismes dont se compose la préparation type. Ils sont recourbés avec des parties plus renflées, et contenant un ou des espaces vésiculaires clairs.

Le protoplasme se colore en bleu pâle. La substance nucléaire semble avoir disparu en totalité en tant que la coloration permet de nous en rendre compte.

Les vésicules ne sont pas bordées d'une zone de granulations. Dans les préparations vieilles, toutes les formes décrites s'altèrent par un processus de vésiculation et d'apparition de granulations fortement colorées (sporulation?).

---

*Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einreichung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.*

---

## Inhalt.

**Bang, J. und Forssmann, J.**, Antwort auf Dr. Karl Landsteiners Bemerkungen anlässlich der vorläufigen Mitteilung über Hämolysinbildung von Bang und Forssmann, p. 669.

**Bertarelli, E.**, „Spirochaete pallida“ und Osteochondritis, p. 639.

**Doerr, R.**, Ueber die infektiösbefördernde Wirkung steriler Exsudate, (Schluß.), p. 593.

**Eisenberg, Philipp**, Weitere Untersuchungen über den Mechanismus der Agglutination und Präzipitation. (Forts.), p. 651.

**Fichera, G.**, Zur Kenntnis der Immunisierungsverhältnisse der Choleravibrionen. (Schluß.), p. 671.

**Galli-Valerio, Bruno**, Notes de Parasitologie, p. 643.

**Ghon, A., Mucha, V. und Müller, R.**, Beiträge zur Kenntnis der anaeroben Bakterien des Menschen. IV. Zur Ätiologie der akuten Meningitis. (Forts.), p. 606.

**Gosio, B.**, Bemerkungen zu dem Aufsatz von Gloger: „Kalium tellurosum in der Medizin und Hygiene“. (Schluß.), p. 680.

**Hammerl, Hans**, Studien über die Morphologie des *Vibrio cholerae asiaticae*, p. 611.

**Hasslauer**, Der Bakteriengehalt der Nase bei den Infektionskrankheiten, mit besonderer Berücksichtigung der Meningitis cerebrospinalis epidemica, p. 633.

**Jansen, Hans**, Ueber die Resistenz des Tuberkulins dem Licht gegenüber, p. 677.

**Klimenko, W. N.**, *Bacillus paratyphosus B e cane*, p. 617.

**Leurlaux, C. et Geets, V.**, Culture du *Treponema pallidum* de Schaudinn, p. 684.

**Müller, Reiner**, Zur Ätiologie der Geflügeldiphtherie. (Schluß.), p. 621.

**Forges, O. und Prantschoff, A.**, Ueber die Agglutinabilität von Bakterien, besonders des *B. typhi*. (Schluß.), p. 658.

**Schumacher, Gerh.**, Ueber den Streptococcus mucosus und seine Unterscheidung von anderen Streptokokkenarten, p. 628.

**Shibayama, G.**, Ueber die Wirkung der bakteriologischen Heilsera bei wiederholten Injektionen. (Schluß.), p. 606.

**Smidt, Henry**, Ueber einen neuen, beim Gibbon gefundenen Strongylus (*Strongylus ovatus* v. Linstow), p. 646.

**Soprana, P.**, Ueber im Körper latente Bakterien und die Möglichkeit ihrer Verbreitung im Organismus, p. 601.

## Beiträge zur Kenntnis der anaeroben Bakterien des Menschen.

[Aus dem pathologisch-anatomischen Institute in Wien (Vorstand: Prof. Dr. A. Weichselbaum).]

### IV. Zur Aetiologie der akuten Meningitis.

Von Prof. Dr. A. Ghon, Dr. V. Mucha und Dr. R. Müller.

Mit 2 Tafeln und 5 Textfiguren.

(Schluß.)

Wenn wir folgende Tabelle überblicken, so sehen wir zunächst, daß die im Falle I und im Falle IV gefundenen Bacillen fast in allen Punkten übereinstimmen. Ein Unterschied findet sich in der Tabelle nur bei der Pathogenität der Bacillen angegeben, indem der im Falle I beschriebene Bacillus sich als gering pathogen erwies, der im Falle IV isolierte aber keine Pathogenität mehr nachweisen ließ. Dieser Unterschied darf unserer Meinung nach aber nicht dazu herangezogen werden, beide Bacillen auseinanderzuhalten. Wir hoben ausdrücklich bei der Beschreibung des im Falle IV gezüchteten Bacillus hervor, daß Tierexperimente erst mit späteren Generationen ausgeführt werden konnten, da die Fortzüchtung zu Anfang großen Schwierigkeiten begegnet war. Der nicht gelungene Nachweis der Pathogenität beweist also nicht, daß Pathogenität überhaupt gefehlt habe. Wir können also sagen, daß die Bacillen im Falle I und IV in den morphologischen, kulturellen und biologischen Merkmalen übereinstimmen. Diese Uebereinstimmung hat sich auch bei der Weiterzüchtung der beiden Stämme immer wieder gezeigt.

Ebensowenig kann als ein Unterscheidungsmerkmal der beiden Bacillen die Tatsache gelten, daß in den Schnittpräparaten des Falles I die Bacillen an einigen Stellen in kleineren und größeren Gruppen zusammenlagen und in diesen Gruppen oft längere Formen zeigten, während im Falle IV so ausgesprochene Haufen fehlten und die Bacillen fast durchaus ihre kurzen Formen hatten.

Der Versuch, mit Hilfe der Agglutination zu entscheiden, ob die beiden Bacillen identisch seien, schlug fehl.

Es war zu diesem Zwecke versucht worden, ein Kaninchen von 2600 g Körpergewicht zu immunisieren. Das Tier erhielt in der Zeit vom 24. Okt. bis 18. Nov. 1905 107 ccm einer Traubenzuckerbouillonkultur des Stammes vom Falle I intraperitoneal und intravenös injiziert. Die Injektionen verliefen reaktionslos. Makroskopische Agglutinationsversuche des dem Tiere 1 Woche nach der letzten Injektion entnommenen Serums mit Aufschwemmungen der Stämme aus den Fällen I und IV zeigten keinen Unterschied gegenüber den Kontrollproben. Die dabei verwendeten Verdünnungen waren 1:10, 1:20 und 1:40.

Das im Falle III isolierte Mikrobion gehört in die Gruppe der Vibrionen. Dafür spricht vor allem und nach unserer Meinung auch völlig beweisend das morphologische Verhalten: Das Bakterium bildete häufig, unter gewissen Bedingungen ausschließlich gekrümmte Formen, die sich gegen die beiden Enden zu etwas verjüngten und in jungen Kulturen die für den Vibrionentypus charakteristische „Kipffelform“

Tabelle.

	Fall I:	Fall II:	Fall III:	Fall IV:
Morphologisches Verhalten:	Kleine Bacillen, ähnlich den Influenzabacillen, in den Kulturen häufig kurz-oval	Gerade Stäbchen, etwas länger als Typhusbacillen, wenig pleomorph	Vibrio mit typhischen „S“- u. „3“-Formen	wie No. 1
Färberisches Verhalten:	Häufig bipolar gefärbt, leicht färbbar. Gram-negativ	Leicht färbbar, oft Körnchen zeigend. Gram-positiv in ganz jungen Kulturen, in älteren zum größeren Teile oder ganz gram-negativ	Schwer färbbar mit Methylenblaulösungen. Gramnegativ	wie No. 1
Sporenbildung:	negativ	negativ	negativ	negativ
Beweglichkeit:	unbeweglich	beweglich	beweglich	wie No. 1
Oberflächenkolonien in Wasserschicht:	Zart, schwer zu erhalten	Ziemlich üppig und ähnlich den Kolonien aus der Gattung Staphylococcus, leicht zu erhalten	Zart, schwer zu erhalten	wie No. 1
Wachstum in Traubenzuckeragar (hohe Schicht):	Hanfkorngroße Kolonien mit dichterem zentralem Anteil oder ziemlich üppiges Band im Stichkanal	Charakteristisch. halbmondförmige Ausläufer vom Impfstich aus	Kleinste, oft schwärzliche Kolonien oder zartes, unscharf begrenztes Band im Impfstich	wie No. 1
Gasbildung in Agar mit Trauben-, Rohr- oder Milchzucker:	fehlt	ziemlich üppig	wenig üppig und ungleichmäßig	fehlt
Gelatine (mit Traubenzucker) bei 21° C:	Sehr langsames Wachstum, nicht charakteristisch, ohne Verflüssigung	Wachstum gut. Kolonien mit bräunlichem zentralem Kern und wolkigem, schwärzlich-braunem Hof u. Verfärbung der Gelatine. Verflüssigung sehr spät in den bei 37° C gehaltenen Kulturen	Wachstum gut. Kolonien mit wolkigem Hof, schwärzlich-brauner Verfärbung des Nährbodens. Keine Verflüssigung	wie No. 1
Zuckerfleischbrühe:	Zarte Trübung, die längere Zeit bestehen bleibt	Trübung mit Schaumbildung, später reichlicher Bodensatz	Trübung, die längere Zeit bestehen bleibt, spärliche Satz-bildung	wie No. 1

	Fall I:	Fall II:	Fall III:	Fall IV:
Eiweißfreie Nährböden nach Ushinsky:	kein Wachstum	kein Wachstum	kein Wachstum	kein Wachstum
Erstarrte Hydrokelen- und Ascitesflüssigkeit:	Keine Verflüssigung, keine Gasbildung	Ziemlich üppige Gasbildung u. langsame Verflüssigung	Gasbildung nicht beobachtet. Keine Verflüssigung. Braunfärbung des Nährbodens	wie No. 1
Milch:	Langsame Gerinnung ohne Verflüssigung und ohne Gasbildung	Makroskopisch ohne Veränderung	Langsame Gerinnung mit unvollständiger u. langsamer Verflüssigung	wie No. 1
Zuckeragar mit indigoschwefelsaurem Natrium:	Vollständige Entfärbung ohne Gasbildung	Vollständige Entfärbung mit Gasbildung	wie No. 1	wie No. 1
Zuckeragar mit Neutralrot:	Entfärbung ohne Gasbildung	Entfärbung mit Gasbildung	wie No. 1	wie No. 1
Lackmusmannitagar:	Entfärbung ohne Gasbildung	wie No. 1	wie No. 1	wie No. 1
Schwefelwasserstoffbildung:	spärlich positiv	reichlich positiv	reichlich positiv	wie No. 1
Indolbildung:	negativ	spärlich positiv	negativ	negativ
Essigsäurebildung:	negativ	Spuren	Spuren	wie No. 1
Gasanalyse:	—	CO <sub>2</sub> = 37,98 % N = 4,13 % H = 57,89 %	—	—
Geruch:	—	fötid	fötid	—
Lebensfähigkeit:	gering	ziemlich groß	ziemlich groß	gering
Pathogenität für die gebrauchten Versuchstiere:	gering	gering	nicht nachweisbar	nicht nachweisbar

zeigten. Diese Formen lagerten oft in den bekannten „S“- und „3“-Formen, ließen mitunter auch eine Gruppierung zu „fischzugartigen“ Schwärmen erkennen und zu verschiedenen langen Spirillenverbänden. Vielfach wieder war der Krümmungsradius der Einzelindividuen ein derart großer, daß Formen entstanden, die sich dem Bacillentypus näherten oder diesen zeigten.

Mit der Gruppe der Vibrionen teilte das isolierte Mikrobion auch die Eigentümlichkeit, im allgemeinen schlecht Methylenblaufärbungen anzunehmen und oft ungefärbte, vakuolenähnliche Stellen im Bakterienleibe zu zeigen. Daß es auch anaërobe Vibrionen gibt, ist bekannt.

Wenn wir nun die von uns isolierten Bakterien mit jenen vergleichen, die E. Rist gefunden und beschrieben hat, so müssen wir zunächst hervorheben, daß wir bei E. Rist kein Bakterium finden, das mit den aus den Fällen I und IV gezüchteten Bacillen verglichen werden könnte.



Betrachten wir aber die der Arbeit von E. Rist beigegebene Tafel, so finden wir, daß die Abbildung 6 — ein Präparat aus einer Zuckeragarkultur des *Bacillus radiiformis* (Rist et Guillemot) darstellend — entschieden Aehnlichkeit besitzt mit jenen Deckglasbildern, die wir bei dem aus dem Falle II gezüchteten *Bacillus* gesehen haben. Nach E. Rist ist der *Bacillus radiiformis* aber unbeweglich und gramnegativ, verflüssigt die Gelatine und bildet in dieser sehr charakteristische, einem Seeigel oder einer beschalteten Kastanie ähnliche Kolonien. Unser *Bacillus* aus dem Falle II hingegen ist beweglich und grampositiv<sup>1)</sup> und zeigt der Gelatine gegenüber ein eigentümliches Verhalten. Er läßt nämlich auch nach längerer Beobachtung bei Temperaturen von 21° C Verflüssigung der Gelatine nicht erkennen, auch nicht in Zuckergelatinekulturen, die bis zu 8 Tagen bei 37° C gehalten werden; denn diese erstarren prompt, wenn man sie in kaltes Wasser stellt. Erst wenn die Kulturen 12—14 Tage im Brutofen gestanden hatten, blieb die Erstarrung der Gelatine aus, selbst wenn man die Röhrchen durch viele Stunden in fließendes kaltes Wasser stellte, während gleich behandelte Kontrollröhrchen sofort wieder Erstarrung der Gelatine zeigten. Das sind der Unterschiede genug, um die beiden genannten Formen als artverschiedene auseinanderzuhalten.

Was schließlich den *Vibrio* aus dem Falle III anbelangt, so ähnelt er morphologisch dem von E. Rist beschriebenen und auch abgebildeten *Spirillum nigrum* (Abbildung 7). Mit diesem zeigt der von uns isolierte *Vibrio* auch darin Uebereinstimmung, daß er Gelatine nicht verflüssigt, nur wenig Gas erzeugt, einen penetranten fötiden Geruch gibt und schwarze Kolonien in Zuckeragar und Zuckergelatine bildet. Auch Pathogenität ist bei dem *Spirillum nigrum* von E. Rist keineswegs sichergestellt. Denn ein intraperitoneal geimpftes Kaninchen blieb ohne Reaktion, während die 2 subkutan geimpften Meerschweinchen 15 Tage später verendeten, ohne besondere Läsionen bei der Autopsie gezeigt zu haben (... „qui moururent au bout de 15 jours sans présenter de lésions appréciables à l'autopsie“). Einen Unterschied zwischen den beiden Formen finden wir nur in der Größe der Kolonien. E. Rist gibt nämlich an, daß gut isolierte Kolonien seines *Spirillum* in Zuckeragar einen Durchmesser von 2—3 mm haben, dabei kohlschwarz und gut begrenzt sind. Derartige Eigenschaften konnten wir bei unserem *Vibrio* aus dem Falle III niemals bemerken. Wir müssen es also dahingestellt sein lassen, ob unser *Vibrio* mit dem *Spirillum nigrum* von E. Rist identisch ist oder nicht, können aber jedenfalls annehmen, daß sie einander recht nahe stehen.

Auch bei der Durchsicht der übrigen uns zugänglichen Literatur über anaerobe Bakterien fanden wir keine Mikroben, mit denen wir sicher die von uns beschriebenen Arten identifizieren konnten. Nur Russ<sup>2)</sup> hat in jüngster Zeit in dieser Zeitschrift ein anaerobes Stäbchen beschrieben, das im Eiter eines periproktitischen Abscesses neben Streptokokken nachweisbar war. Dieser *Bacillus* war morphologisch dem Influenzabacillus ähnlich und gleich diesem gramnegativ; er wuchs nur

1) Das Verhalten eines Bakteriums zur Färbemethode von Gram beurteilen wir nach jungen Kulturen, da nach unserer Erfahrung nur diese dafür ausschlaggebend sind. Gerade von den Anaëroben wissen wir, daß grampositive Arten mit zunehmendem Alter — oft nach Stunden zählend — gramnegativ werden.

2) Russ, K., Ueber ein Influenzabacillen-ähnliches anaerobes Stäbchen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX. 1905.)

in Traubenzuckeragar unter anaëroben Bedingungen und zeigte keine Pathogenität für Mäuse. Russ betrachtete sein Stäbchen als Saprophyten. Wenn auch zweifelsohne morphologische Aehnlichkeiten zwischen dem Bacillus von Russ und den von uns in den Fällen I—IV isolierten Stäbchen bestehen, so glauben wir doch eine Identität dieser ablehnen zu müssen. Diese Ansicht begründen wir vor allem damit, daß das Stäbchen von Russ der Oberflächenkultur keine Schwierigkeiten bereitete, ganz abgesehen davon, daß es auch einige andere kulturelle Merkmale zeigte, die wir an unseren Formen nie beobachteten.

Schon an anderer Stelle haben wir hervorgehoben, daß wir die Reichhaltigkeit der anaëroben pathogenen Bakterienflora für größer ansehen, als man gemeiniglich annimmt. Die Befunde von E. Rist und von uns beweisen dies aufs neue und lassen annehmen, daß auch unsere Kenntnisse über die Aetiologie der intrakraniellen Komplikationen nach chronischen Ohraffektionen noch Erweiterung erfahren können. Systematische Untersuchungen an einem großen Material müßten überdies lehren, ob bestimmte anaërobe Arten häufiger vorkommen. Diese Studien hätten nicht allein wissenschaftliches Interesse, sondern auch einen gewissen praktischen Wert, da die Behandlung dieser Affektionen daraus wahrscheinlich Nutzen ziehen könnte.

Das makroskopische Verhalten der entzündlichen Veränderungen an den Hirnhäuten war in den beschriebenen 4 Fällen nicht immer gleich. In den Fällen I und IV zeigte das Exsudat keinen fötiden Charakter, sondern war eiterig und eiterig-fibrinös. Die Anwesenheit von Fibrin ließ sich schon grobanatomisch nachweisen und wurde durch die histologische Untersuchung bestätigt. Die aus diesen Fällen isolierten Bacillen bildeten keine stinkenden Gase. Im Falle I war das Exsudat vorwiegend auf die Hirnteile innerhalb der hinteren Schädelgrube beschränkt, im Falle IV überzog es die Konvexität und im geringeren Grade die Unterfläche des Vorderhirns. In diesem Falle erschien die der Ohraffektion entsprechende Hemisphäre stärker betroffen als die andere.

In den Fällen II und III hatte das Exsudat fötiden Charakter. Dementsprechend bildeten auch die aus diesen Fällen isolierten Bakterien stinkende Gase in den Kulturen. In beiden Fällen war das Exsudat vor allem an der Hirnbasis nachweisbar. Im Falle II konnte eine histologische Untersuchung nicht vorgenommen werden, im Falle III ließ sich mikroskopisch auch Fibrin nachweisen.

Die von uns isolierten Mikroben wurden bis zum Abschlusse dieser Arbeit fortgezüchtet und zwar als:

- 1) Stamm „Mg“, isoliert aus dem Falle I am 16. April 1902, in 198 Generationen;
- 2) Stamm „S. V.“, isoliert aus dem Falle II am 16. Juni 1903, in annähernd ebenso vielen Generationen wie Stamm „Mg“;
- 3) Stamm „96“, isoliert aus dem Falle III am 27. Februar 1904, in 124 Generationen;
- 4) Stamm „102“, isoliert aus dem Falle IV am 29. März 1904, in 118 Generationen.

Alle 4 Stämme hatten ihren obligat anaëroben Charakter und ihre sie kennzeichnenden Merkmale beibehalten. Sie wurden der Bakteriensammlung von F. Král in Prag einverleibt.

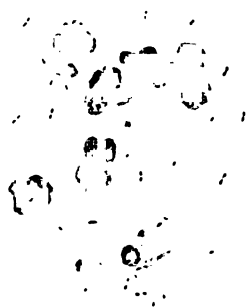
**Erklärung der Abbildungen.****Tafel I.**

- Fig. 1. Fall I; Deckglaspräparat vom Gehirnexusudat (Immersion).  
 Fig. 2. Fall I; Schnittpräparat vom Gehirn: Exsudat der inneren Hirnhäute mit Bakterienhaufen (Zeiss D, Ok. 1).  
 Fig. 3. Fall I; Bakterienhaufen aus einer Stelle des Präparates von Fig. 2 (Immersion).  
 Fig. 4. Fall I; aus einer anderen Stelle des Präparates von Fig. 2: Intracellulär gelagerte Bacillen (Immersion).  
 Fig. 5. Fall I; aus einem Präparat von einer 10-tägigen Kultur in erstarrter Hydrokelenflüssigkeit (37° C): Kleine typische und schlecht gefärbte Formen (Immersion).  
 Fig. 6. Fall I; aus einem Präparat von einer Traubenzuckeragarkultur, 4 Tage alt (37° C): Typische und zum Teil noch bipolar gefärbte geblähte Formen (Immersion).  
 Fig. 7. Fall I; aus einem Präparat von einer Traubenzuckeragarkultur, 3 Tage alt (37° C): Typische Formen, zum Teil gebläht (Immersion).  
 Fig. 8. Fall II; aus dem Deckglaspräparat des Gehirnexusudates (Immersion).  
 Fig. 9. Fall II; aus einem Präparat von einer Kolonie einer 4-tägigen Traubenzuckeragarplatte (37° C) unter Wasserstoffatmosphäre: Spindel-, Keulen- und Tonnenformen (Immersion).  
 Fig. 10. Fall II; aus einem Präparat einer Traubenzuckeragarkultur, 14 Monate alt (37° C): Fäden (Immersion).

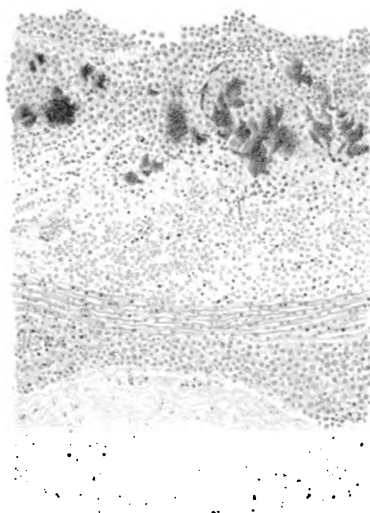
**Tafel II.**

- Fig. 11. Fall II; Oberflächenkolonie von einer Traubenzuckeragarplatte (Wasserstoffatmosphäre, 37° C), 4 Tage alt (Zeiss A, Ok. 4).  
 Fig. 12. Fall III; aus dem Deckglaspräparat vom Ventrikelexsudat: Leicht gebogene, gramnegative Formen (Immersion).  
 Fig. 13. Fall III; aus einer anderen Stelle des gleichen Präparates wie Fig. 12: Grampositive Kokken und gramnegative, gerade Stäbchen (Immersion).  
 Fig. 14. Fall III; aus einer Stelle eines Schnittpräparates vom Gehirn: Exsudat mit vorwiegend Vibrionen (Immersion).  
 Fig. 15. Fall III; aus einem Präparat von Oberflächenkolonien einer Traubenzuckeragarplatte (Wasserstoffatmosphäre, 37° C), 4 Tage alt: Vibrionen und Spirillen (Immersion).  
 Fig. 16. Fall III; aus einem Präparat von einer 162 Tage alten Kultur in Traubenzuckeragar, im Eiskasten aufbewahrt: Meist gerade Formen des *Vibrio* und Degenerationsformen (Immersion).  
 Fig. 17. Fall IV; aus dem Deckglaspräparat vom Gehirnexusudat: Extra- und intracellulär gelagerte Bacillen (Immersion).  
 Fig. 18. Fall IV; aus einem Präparat einer 12-tägigen Traubenzuckeragarkultur (37° C): Rundliche, geblähte Formen (Immersion).  
 Fig. 19. Fall IV; Stelle aus einem Schnittpräparat vom Gehirn: Exsudat mit extra- und intracellulär gelagerten Bacillen (Immersion).  
 Fig. 20. Fall IV; aus einem Präparat von einer 12-tägigen Kultur in Rohrzuckeragar (37° C): Größere und kleinere, meist schwach gefärbte Formen (Immersion).  
 Für die bei Immersionsvergrößerung gezeichneten Präparate wurde verwendet: Zeiss, homogene Immersion 2 mm, Apert. 1.30, Komp.-Ok. 6.  
 Die Textfiguren wurden von Herm. Dümmler in Wien mit der Stereoskop-Camera nach Prof. Dr. Elschcnig aufgenommen.

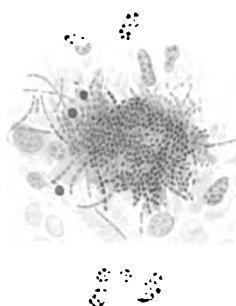
1.



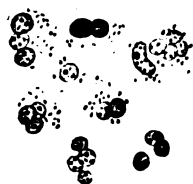
2.



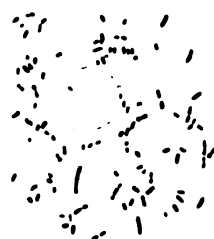
3.



4.



8.



6.



5.



10.



7.

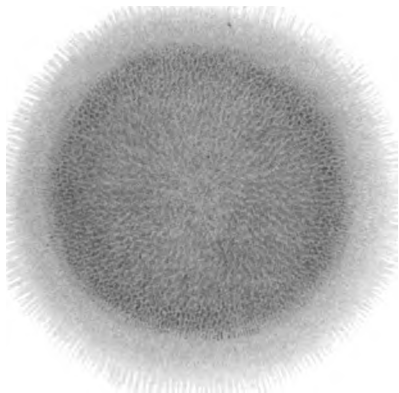


9.





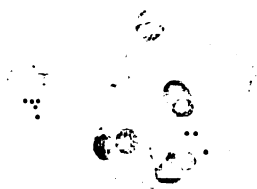
11.



12.



13.



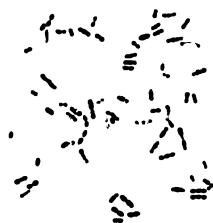
15.



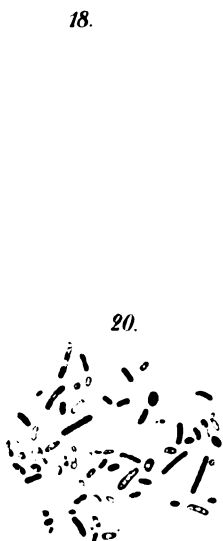
14.



16.



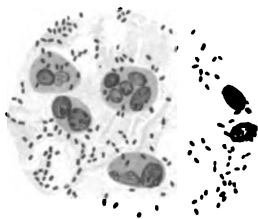
18.



17.



19.



20.





*Nachdruck verboten.*Studien über die Morphologie des *Vibrio cholerae asiaticae*.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Graz.]

Von Privatdozent Dr. **Hans Hammerl**.

Mit 1 Tafel und 1 Figur.

(Fortsetzung.)

Ich beginne mit den Versuchen in Pepton-Kochsalzlösung; dieselben sind tabellarisch (p. 696) zusammengestellt.

Wenn wir die Ergebnisse überblicken, so sehen wir regelmäßig nur bei relativ wenigen Kulturen die eingangs besprochenen runden und vielgestaltigen Formen auftreten. Es sind dies die Stämme „27, 27c, 63 und Klein“; während aber bei den letztgenannten 3 Kulturen die beschriebenen Gebilde nur in einer Lösung mit geringem Salzgehalte entstehen, zeigt 27 gerade das entgegengesetzte Verhalten. Hier entwickeln sich die Kugeln und Bläschen nur in Nährböden mit hohem NaCl-Gehalte. Bei 27c und 64 sind die zuerst auftretenden Formen namentlich im Anfange meist etwas klein, und zeigen auch größere Beweglichkeit als bei „Klein“ und 27. Dafür sind die Kugeln und Bläschen bei Klein stets sehr groß und schön ausgebildet und beherrschen das mikroskopische Bild in einer Weise, daß häufig auch bei langem Suchen Kommata oder Spirillen überhaupt nicht zu sehen sind. Ganz jung gewähren die runden Formen ein fast homogenes Aussehen, sehr bald werden aber Körner und Vakuolen von verschiedener Größe und Zahl sichtbar, und sind die Körner im Innern der Zelle mitunter in lebhafter Bewegung begriffen. Häufig entstehen Vereinigungen zu traubenförmigen Verbänden, die entweder still liegen oder in toto in der Flüssigkeit herumschwimmen. Außer den runden Formen sieht man auch längliche Spindeln, mit einem stumpfen vorderen und einem spitzen hinteren Teil, die gleich kleinen Fischen sich im Gesichtsfelde herum-bewegen, ferner Kipffelformen, Halbmonde, dreieckige Gebilde mit abgestumpften Ecken, kleine Kokkenformen u. dergl.

Beim Stamme 27 ist die Neigung zur Bildung von traubenförmigen Konglomeraten ausgesprochener als bei den anderen. In den Lösungen mit hohem Kochsalzgehalt sieht man außer den runden Formen sehr häufig auch elliptische und ovale, die namentlich bei oberflächlicher Betrachtung ganz den Anblick von einzelliger Hefe gewähren.

Die weitaus überwiegende Mehrzahl der beschriebenen Kugeln und Bläschen behält ihr Aussehen nicht über längere Zeit. Früher bei hohem Salzgehalt, später in den verdünnten Lösungen verlieren sie ihr homogenes Aussehen, sie werden gekörnt, die Membran weist Verdickungen auf, die Konturen werden unregelmäßig eckig und an Stelle der Bläschen und Kugeln erscheinen dann immer mehr plumpe Kommata, breite Spirillen mit flachen Windungen, ferner längliche Spindeln mit Fortsätzen und schwachen Längsschraffierungen, u. s. w. Nach 1—2 Wochen sind dann die runden Formen häufig ganz in den Hintergrund getreten, und an Stelle derselben sieht man außer den Spirillen und den Fadenformen nur mehr einen feinkörnigen Detritus. Man erhält unmittelbar den Eindruck, daß die Bläschen und Kugeln entweder sich in Kommata und Spirillen umwandeln, oder daß sie zerfallen. Beobachtungen im ersteren



## Versuche mit Pepton-Kochsalzlösungen.

Peptonlösung	10 %	8 %	6 %	4 %	2 %	1 %	1/2 %	1/4 %	1/8 %
NaCl-Lös. 6 %			47, 57	47, 57	47, 57	47, 57	47, 57		
„ 5 %		Duisburg, Freiburg	57, 47, 27c, Duisb. Freib.	57, Duisb. Freiburg	47, 57, Duisb. Freiburg	Duisb., Freib.	Freiburg, Duisb., El Tor		
„ 4 %	27, 27c	27, 7, 10, 11, 17, 24, 47, 50, 57, 63, 83, 321, Bom- bay, Aeg. 73 Stäben	47, 57, Aeg. 73, Stäben	27, 27a, 27c, 47, 57, Duis- burg, Freiburg, Stäben, Aeg. 73	27c, 47, 57,	27, 27c	27, 63, 27c	27, 27c, 63	
„ 3 %	27, 27c	27, 27b, 27c	27, 27a, 27c	27, 27c, 47, 57, Duisb. Freiburg	27, 27b, 47, 57		27, 63, 27c	27, 27c, 63	
„ 2 %	27	27, 27b	27	27, Duis- burg, Freiburg, 27b, 27c, 47, 57	27, 27a, 27b, 27c, 47, 57, Aeg. 73, Klein	27, 27b	27, 27c, 63	27, 63, 27c	
„ 1 %	27, 27a, 27b, 27c	27, 27b, 27c	27, 27b, 27c	Duisburg, Freib. 27, 27b, 27c	47, 57	27a, 27b, 27c, 27, 321, 63, Aeg. 73, Klein	27, 27c, 63	27c, 63, 321, 322, 27	
„ 1/2 %	27a, 27c	27a, 27c		27a, 27c		27c	27c, 63, Klein, 27a, 27b, 10, 11, 17, 14, 50, 57, 83, 322, 321, Bombay Aeg. 73	27c, 63, 321, 322	
„ 1/4 %					27c	27c, 63	27c, 63	27c, 63, Klein, 63, 27b, 27a, 321, Calc., Jaffa, Aeg. 74, Stäben, Aeg. 73	
„ 1/8 %						63	63	27c, 63, Klein, 321, 322, 7, 36, 10, 50, 24, 47, 57, Aeg. 74, Calc., Jaffa, Stäben	

Sinne sind auch von Almqvist mitgeteilt worden. Der Zeitraum, welcher verfließt vom Auftreten der Kugeln bis zum Sichtbarwerden der

länglichen Formen, ist variabel. Mitunter, namentlich in Lösungen mit hohem Salzgehalt, sieht man schon nach 24 Stunden die traubenförmigen Konglomerate von Kugeln mit plumpen Kommata und breiten Spirillen durchsetzt, die noch vorhandenen Bläschen stark gekörnt, die Membran stellenweise verdickt, und unregelmäßig konturiert, ja stellenweise ist überhaupt jede Andeutung, daß runde Formen vorhanden waren, verschwunden. Die direkte Umwandlung der runden Formen in die Spirillengestalt zu beobachten, ist mir nicht gelungen. In flüssigen Nährmedien, im hängenden Tropfen, ist eine Beobachtung über längere Zeit infolge der Beweglichkeit undurchführbar, und in Gelatine eingeschlossen schrumpfen die Formen sehr häufig und ist eine weitere Entwicklung nicht konstatierbar.

Die übrigen Kulturen lassen die hier beschriebenen Formen nicht oder nur ausnahmsweise auftreten, und bei der Züchtung in hochprozentigen Pepton-Kochsalzlösungen sieht man nicht selten die gequollenen Formen, die an die Gestalt des *Bacterium coli* oder des *Diphtheriebacillus* erinnern, oder man beobachtet sehr kleine, fast runde Gebilde, die den Eindruck von kleinen Kokken hervorrufen. Häufig sind dann diese Formen zu großen oder kleinen, lebhaft beweglichen Klumpen vereinigt. Mitunter entstehen breite Spirillen vom Aussehen des *Spirillum rubrum*, die wie Schlangen zu einem Knäuel verknötet sind, und sich in lebhafter Bewegung befinden.

Aus der Tabelle geht hervor, daß für die Entwicklung der runden Formen in erster Linie der Salzgehalt, viel weniger der des Peptons von Bedeutung ist. Stamm 27 zeigt z. B. positives Ergebnis bei Züchtung in 1-proz. Peptonlösung, mit hohem NaCl-Gehalt, während die übrigen 3 Stämme nur in sehr verdünnten Kochsalzlösungen die beschriebenen Formen beobachten lassen. Um nun näheren Einblick in die ursächlichen Bedingungen dieses Phänomens zu erhalten, mußte zunächst festgestellt werden, ob außer der Menge des zugesetzten Neutralsalzes auch die Art derselben von Bedeutung ist, und wurde auf Grund dieser Ueberlegung das Verhalten von KCl,  $\text{NH}_4\text{Cl}$ ,  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , LiCl und  $\text{KNO}_3$  geprüft.

Ich führe zunächst die Versuche mit KCl an und möchte gleich an dieser Stelle erwähnen, daß im allgemeinen bei Zusatz dieses Salzes die Entwicklung nicht so üppig erfolgte wie in der NaCl-Lösung und daß namentlich in den hohen Konzentrationen das Wachstum nur zögernd und erst im Laufe einiger Tage sichtbar wurde (s. Tabelle p. 698).

Im wesentlichen sind die Resultate dieselben, wie bei der Verwendung von NaCl. In hochprozentiger Lösung dieses Neutralsalzes entwickelt 27 die Bläschen und Kugeln, bei geringem Gehalte: 63, 27c und „Klein“. Bei den übrigen Kulturen ist ein positives Ergebnis nicht regelmäßig zu beobachten. Bombay z. B. zeigte öfters in 4-proz. Pepton-KCl-Lösung Bläschenformen; dieselben zeichneten sich aber meist durch sehr raschen Zerfall aus. Bei der Kultur 27 ist der Zeitraum, welcher verstreicht von der Entwicklung der Bläschen bis zur Umwandlung in Komma- und Spirillenformen, manchmal außerordentlich kurz, bereits nach 24 Stunden sieht man an Stelle der traubenförmigen Verbände zahlreiche Kommata und Spirillen, die vorhandenen Kugeln selbst erscheinen inhaltslos in sich zusammengefallen, leeren Beuteln vergleichbar.

## Versuche mit Pepton-KCl-Lösungen.

Peptonlösung	8 ‰	6 ‰	5 ‰	4 ‰	1 ‰	1/2 ‰	1/4 ‰	1/8 ‰
KCl-Lös. 6 ‰			63, 7, 10, 17, 57, (sehr ge- ringes Wach- stum)					
„ 5 ‰			27					
„ 4 ‰	27, 27c, Aeg. 74, Bombay	27, 27c	27	27, 27c, Berlin, Duisburg				
„ 3 ‰	27, 27c	27, 27c, 83, Aeg. 73	27, 27c	27, 27c	27, 27c			
„ 2 ‰	27, 27c, 24, 7	27, 27c	27, 27c	27, 27c, Klein	27, 27c			
„ 1 ‰	27, 27c	27, 27c, Klein, Stäben	27, 27c	27, 27c, 10, 57	27, 27c, 63, 57, Klein			
„ 1/2 ‰			27, 27c		27, 27c	27c, Klein, 63, 83, 27		
„ 1/4 ‰			27, 27c		27, 27c		27c, Klein, 10, 11, 17, 24, 47, 50, 57, 83	63,
„ 1/8 ‰							27c, 63, 27	27c, Klein, 63

NH<sub>4</sub>Cl.

Einige Versuchsreihen wurden mit Chlorammonium angestellt. Dieselben wurden aber nicht weiter ausgedehnt, da sich dieses Salz bei längerem Erhitzen zersetzt, das NH<sub>3</sub> sich verflüchtet und HCl in der Lösung zurückbleibt.

CaCl<sub>2</sub>.

Chlorcalcium hat sich für die Entwicklung der Kugelform als nicht günstig gezeigt, das Wachstum tritt meist nur allmählich und kümmerlich auf, es bilden sich häufig Klumpen und kleine rundliche Formen. Schöne Bläschen und Kugeln wurden nur ausnahmsweise gesehen (z. B. bei „Klein“ in 1-proz. CaCl<sub>2</sub>-Peptonlösung). Bei Zusatz großer Mengen CaCl<sub>2</sub> zum Pepton tritt sehr bald körniger Zerfall auf. Es ergab negative Resultate die Ueberimpfung der Kulturen 47 und 57 in 2-proz. Peptonlösung mit 1/4, 1/2, 3/4, 1, 1 1/2, 2, 3, 4 Proz. CaCl<sub>2</sub>, ferner der Kulturen 63, 27c, „Stäben“, „Aegypten 73“ in 1-, 1/2-, 1/4-, 1/8-proz. Pepton-CaCl<sub>2</sub>-Lösung.

Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

In geringen Konzentrationen dem Pepton zugesetzt erwies sich das schwefelsaure Natron für die Entwicklung der rundlichen Formen bei den Kulturen 27c und 63 außerordentlich günstig. Schöner noch als bei NaCl entstanden hier meist schon nach 24–48 Stunden in den

Konzentrationen  $\frac{1}{2}$ — $\frac{1}{8}$  Proz. Pepton- $\text{Na}_2\text{SO}_4$  Kugeln von oft recht beträchtlicher Größe, welche in ihrem Innern bewegliche Körner beherbergten. Außer den runden Formen sah man auch langgestreckte, elliptische, gut bewegliche, fischähnliche Gebilde. Im Gegensatz zu dem Verhalten in  $\text{NaCl}$  und  $\text{KCl}$  bleiben die runden Wuchsformen in diesen Salzlösungen verhältnismäßig lange unverändert erhalten, allmählich findet jedoch auch bei ihnen eine Umwandlung in Komma- und Spirillenformen statt. Außer den genannten beiden Stämmen kamen auch bei anderen Kulturen runde und vielgestaltige Formen zur Entwicklung, jedoch nicht regelmäßig, so daß von einem konstanten Verhalten nicht gesprochen werden kann. Merkwürdigerweise ließ der Stamm „Klein“, der sich sonst bei der Züchtung in verdünnten Salzlösungen ähnlich verhielt wie 27c und 63, in verdünnter  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ -Lösung Abweichungen von der Form nur in wenig ausgesprochener Weise auftreten, am ehesten noch in einer 1-proz. Pepton- $\text{Na}_2\text{SO}_4$ -Lösung. Im einzelnen gibt folgende Tabelle die Resultate wieder:

Versuche mit Pepton  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ -Lösungen.

Peptonlösung	6 ‰	4 ‰	2 ‰	1 ‰	$\frac{1}{2}$ ‰	$\frac{1}{4}$ ‰	$\frac{1}{8}$ ‰	$\frac{1}{16}$ ‰
$\text{Na}_2\text{SO}_4$ -Lös. 6 ‰			47, 57					
„ 5 ‰			47, 57					
„ 4 ‰	27, Einlage, Klein		47, 57				47, 57	
„ 3 ‰		27, Einlage Klein						
„ 2 ‰			47, 57, Klein				47, 57	
„ 1 ‰			47, 57	Klein, 47, 57, 322, 7, 36, 27, 27c, 63, Aeg. 73			47, 57	
„ $\frac{1}{2}$ ‰			47, 57		27c, 63, Klein, 47, 57, 322, 36, Neufahrwasser, Aeg. 74		47, 57	
„ $\frac{1}{4}$ ‰			47, 57			27c, 63, 322, Klein, 36, Einlage, Aeg. 74		
„ $\frac{1}{8}$ ‰						7, 36, 17, Berlin, 11, 50, 322, El Tor, 83, 24, 10, Stäben, Aeg. 74	27c, 63, 27, 36, 47, 57, 322, 7, Klein, Jaffa	
„ $\frac{1}{16}$ ‰								27c, 63, 47, 57, 322, 36, 7, Aeg. 73, Stäben

## LiCl.

Da Gamaleia und Maassen besonders mit Li-haltigen Nährböden von der normalen Gestalt abweichende Formen erzielt hatten, so verwendete auch ich dieses Salz als Zusatz zum Pepton. Nach der Angabe der beiden Autoren könnte man glauben, daß der Choleravibrio ganz allgemein durch Li-Salze zu einer wesentlichen Gestaltsveränderung veranlaßt werde, wenigstens finden sich in den Arbeiten Gamaleias und Maassens keine diesbezüglichen einschränkenden Bemerkungen. Meine Beobachtungen mit Pepton-LiCl-Lösungen haben mir jedoch gezeigt, daß wie gegenüber den bereits besprochenen Neutralsalzen auch dem LiCl gegenüber die Stämme verschiedener Herkunft sich verschieden verhalten, daß also eine gesetzmäßige Gestaltsveränderung durch Einwirkung des Li-Salzes beim *Vibrio cholerae asiaticae* nicht herbeigeführt wird.

Positive Ergebnisse wurden erzielt bei der Züchtung von 27 in 4-proz. Pepton-, 3-proz. LiCl-Lösung, beim Wachstum von „Klein“ in  $\frac{1}{2}$ -proz. Pepton-LiCl-Lösung, ferner von 27c, 63 und „Klein“ in  $\frac{1}{4}$  proz. Pepton-LiCl-Lösung.

Die Uebertragung der Kulturen 57, 24, 36 und 83 in 8-proz. Pepton-, 4-proz. LiCl-Lösung, ferner derselben Kulturen in 1-proz. Pepton-, 1-proz. LiCl-Lösung, weiter von 24, 7, 63, 27c, 27, 47, „Duisburg“, „Berlin“, „Stäben“ in  $\frac{1}{2}$ -proz. Pepton-LiCl-Lösung und der Kulturen 17, 57, 24, 83, 11, 7, 36, „Berlin“, „El Tor“, 27 und „Stäben“ in  $\frac{1}{4}$ -proz. Pepton-LiCl-Lösung hatten negatives Ergebnis.

KNO<sub>3</sub>.

Dieses Salz erwies sich im allgemeinen als wenig günstig für das Auftreten der abnormen Formen. 47 und 57 in 4-proz. Peptonlösung mit  $\frac{1}{4}$ ,  $\frac{1}{2}$ ,  $\frac{3}{4}$ , 1,  $1\frac{1}{2}$ , 2, 3, 4 und 5 Proz. KNO<sub>3</sub> übertragen, entwickelten fast nur Kommata und Spirillen. Desgleichen in  $5\frac{1}{2}$ -proz. KNO<sub>3</sub>-Lösung mit 1, 2, 3 und 5 Proz. Pepton Gehalt. Dasselbe Resultat ergab 27, 27c, 63 und Egypten 73 in 1-proz., ferner 27c, 63 und „Einlage“ in  $\frac{1}{2}$ -proz. Pepton-KNO<sub>3</sub>-Lösung und alle zur Verfügung stehenden Stämme mit Ausnahme von „Klein“ in  $\frac{1}{4}$  Pepton-KNO<sub>3</sub>-Lösung. In diesem Nährmedium bildet diese Kultur im Gegensatz zu allen anderen sehr schöne kreisrunde, große Kugeln, die entweder frei beweglich waren oder sich zu traubenartigen Verbänden vereinigten. 27c und 63 ließen nur andeutungsweise abnorme Wuchsformen entstehen, eine Ausnahme von dem sonst fast stets bei diesen Kulturen in geringprozentigen Lösungen beobachteten Verhalten.

Um festzustellen, ob die Anwesenheit mehrerer Salze in demselben Nährboden nicht eher im stande ist, die Morphologie des *Vibrio cholerae asiaticae* im beschriebenen Sinne zu beeinflussen, wurden der Peptonlösung 2 oder mehrere Neutralsalze in wechselnder Konzentration zugesetzt. Das Ergebnis dieser Untersuchungen war jedoch kein wesentlich von den früheren verschiedenes. So ließ 7, 10, 11, 17 in 4-proz. Peptonlösung mit je 1,75 Proz. NaCl- und KCl-Gehalt, ferner in der Peptonlösung mit je 3 und 3,5 Proz. NaCl- und KCl-Gehalt nur Komma- und Spirillenformen entstehen. Auch Lösungen von 1 Proz. Pepton mit Zusatz von je  $\frac{1}{4}$  Proz. KCl, NaCl, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> und LiCl oder  $\frac{1}{2}$  Proz. derselben Neutralsalze erzielten bei den Stämmen Berlin 27c, 27, 47 keine abnormen Wuchsformen. Nur bei 63 waren sie mitunter in größerer Zahl vorhanden.

(Forts. folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Kasuistische Mitteilungen. I.

[Aus dem hygienischen Institute der Universität Gießen.  
Direktor: Prof. Dr. Kossel.]

Von Dr. **Karl Kisskalt**, Privatdozent und Assistent am Institute.

### 1) Influenzabacillen bei Pyo- und Hydrosalpinx.

Auszug aus der Krankengeschichte: Frau E., 40 Jahre alt. Seit 1892 steril verheiratet. 1897 wegen eines Geschwüres am Eierstock (rechts) von der Scheide aus operiert. Heilung. Ab und zu starke Menstruationsbeschwerden. Seit  $3\frac{1}{2}$  Wochen in Behandlung. Seit gestern bestehen starke Schmerzen, in der Nacht leichte Blutung.

Status: Uterus klein, ante-dextroponiert, an die Symphyse gedrängt, dahinter ein mächtiges Exsudat. Operation am 22. April 1905. Incision des hinteren Scheidengewölbes mit Thermokauter, dann Eröffnung der beiderseitigen Exsudathöhlen. Aus der rechten entleert sich reichlich Pus, aus der linken blutig-seröse Flüssigkeit. Tamponade. — 26. April 1905 Tampon entfernt. Geringe Sekretion, wenig Pus. Adnextumoren verschwunden. — 22. Mai 1905 Dilatation der Incisionshöhle. 6. Juni 1905 entlassen. Uterus anteflektiert. Rechts noch ein kleines Exsudat. Geringe Druckempfindlichkeit rechts. Ausfluß gering.

In dem Eiter wurden mikroskopisch mäßig zahlreiche, sehr kleine, gramnegative, extracellulär liegende Stäbchen gefunden; in der Flüssigkeit aus dem Hydrosalpinx dieselben, aber ziemlich spärlich. Auf blutbestrichenem Agar und in dem mitausgestrichenen Eiter auf gewöhnlichem Agar wuchsen typische Kolonien von Influenzabacillen, in Bouillon fand kein Wachstum statt. Ebenso blieb es aus, als auf gewöhnlichen Agar übergeimpft wurde, während die Bacillen auf blutbestrichenem Agar noch eine Zeitlang fortgezüchtet werden konnten. — Auf nochmalige Anfrage gab die Patientin an, daß sie vor 8—9 Jahren einmal Influenza durchgemacht habe, seitdem nicht mehr.

Influenzabacillen wurden in letzter Zeit, abgesehen von der Schleimhaut des Respirationstraktus, ziemlich häufig bei Meningitis und Encephalitis aufgefunden; seltenere Lokalisationen sind solche in der Gallenblase (Heyrovský, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XXXVI. 1905. No. 3. p. 125), auf der Urethra (Cohn, Deutsche med. Wochenschr. 1905. p. 1152) und im Endokard (Horder, Münch. med. Wochenschr. 1906. p. 102).

### 2) Typhusbacillen in der Galle.

Die Patientin J. wurde wegen Cholelithiasis in der chirurgischen Klinik operiert. In der Galle fanden sich unbewegliche Stäbchen, die zu wenigen anscheinend an Schleimflockchen lagen. Die kulturelle Untersuchung ergab Typhusbacillen in Reinkultur; die Agglutination war in demselben Grade positiv wie bei einem aus Typhusmilz gezüchteten Stamm (1 : 10 000 +, 1 : 25 000 —). Auch Eigenbewegung war in der Kultur vorhanden; sie fehlte übrigens auch stets bei *B. coli* in den bisher untersuchten Gallen, wenn sie in der Kultur vorhanden war. — In dem Stuhl der Patientin konnten Typhusbacillen nicht nachgewiesen werden; da sie stark anämisch war, ließ sich leider kein Blut zur

Agglutinationsprobe erhalten. — Anamnestisch konnte nichts ermittelt werden, was für einen überstandenen Typhus sprach; doch kamen im vergangenen Jahre in der Heimat der Patientin Typhusfälle vor.

### 3) Meningokokkenähnliche Mikroorganismen.

Bei einem ziemlich heftigen Schnupfen des Verf., der von Anfang bis zu Ende dickes eiteriges Sekret zeigte, fanden sich unter Ausschluß anderer Bakterien zahlreiche, fast stets intracellulär liegende, gram-negative Diplokokken, die sich durch nichts von Meningokokken unterscheiden ließen. Ausstrich auf Agar und blutbestrichenem Agar ergab in Reinkultur Kolonien, die nach 24 Stunden einen Durchmesser von etwa 1 mm hatten; sie waren oberflächlich rauh, zeigten gelbliche Farbe und ließen sich auf den Deckgläschen schwer verreiben, drei wichtige Unterschiede von Meningokokken. Bei 60facher Vergrößerung erschienen sie sehr grob granuliert. In der Agarstichkultur erfolgte das Wachstum nur an der Oberfläche. In der Bouillon wuchsen sie in kleinen Bröckelchen auf dem Boden. Die Kokken waren auch jetzt gramnegativ und sahen genau wie Meningokokken aus, indem die Individuen der Paare gegeneinander abgeplattet waren und bei genauer Betrachtung oft eine zu der ersten senkrechte Trennungslinie zeigten. Bei 23° fand weder auf Gelatine noch auf Agar Wachstum statt. Die weitere Untersuchung sollte aus äußeren Gründen verschoben werden, doch erwiesen sich die Kulturen nach 14 Tagen als abgestorben. — Verf. hatte 6 Wochen vorher zum letzten Male mit Meningokokken gearbeitet.

*Nachdruck verboten.*

## Bacillus paratyphosus B e cane.

[Aus der chemischen Abteilung des kaiserl. Instituts für experimentelle Medizin und dem klinischen Laboratorium des Kijeffschen Lazarets vom roten Kreuze in der Stadt Tschita.]

Von Dr. W. N. Klímenko, St. Petersburg.

(Schluß.)

Die Ergebnisse der Sektion waren im allgemeinen folgende:

1) Bei subkutaner Injektion eine umfangreiche, zuweilen  $\frac{1}{4}$  des Körpers umfassende, serös-eiterige Imprägnierung des Unterhautzellengewebes und der daran grenzenden Muskeln.

Anschwellung und Entzündung der benachbarten Lymphdrüsen. Serös-fibrinöse Entzündung des Bauchfells. Parenchymatöse Degeneration der Leber, manchmal nekrotische oder fettig-degenerierte Herde, und in einem Falle (Katze) fast vollständige Verfettung der Leber.

Die Milz vergrößert, von dunkel kirschroter Farbe und weicher Konsistenz (eine Ausnahme bildeten Hunde, bei denen die Konsistenz der Milz nicht von weicher Beschaffenheit war). Parenchymatöse Entzündung der Nieren. Hyperämie der Nebennieren. Hyperämie der Darmwände. Der Inhalt des Darmes flüssig-trübe. Die Brustorgane wiesen nichts Besonderes auf.

2) Bei Injektion der Kultur in die Peritonealhöhle beobachtete man folgendes: Bauchhöhle: Serös-fibrinöse oder blutig-fibrinöse, manchmal serös-eiterige Entzündung des Bauchfells. Die Lymphdrüsen des Mes-

enteriums waren vergrößert; zuweilen Bluterguß darin. Häufig fibrinöse Perihepatitis und Perisplenitis. Zuweilen Hämorrhagieen unter das parietale Blatt des Bauchfells, in die Dicke der Muskulatur der Bauchpresse, in das Pankreas, ins Omentum, in die Nieren, in die Nebennieren, in den Uterus und die Testikel, oft in die Magenwand, in Dickdarm und Dünndarm und Wurmfortsatz.

Der Dünndarm und Wurmfortsatz sind mit einer gelblich-braunen, trüben, bei den Tauben grünlichen Flüssigkeit und mit Gasen gefüllt; die Darmwände stark gerötet. Zuweilen ist der Urin blutig. Die Veränderungen in den anderen Organen der Bauchhöhle sind dieselben, wie bei den Tieren, die an einer subkutanen Injektion des untersuchten Bacillus zu Grunde gingen.

Eine Ausnahme bildet eine Taube, die 29 Tage nach der Infektion lebte, und deren ganze Leber von käsigen Knötchen verschiedener Größe durchsetzt war.

Brusthöhle: Sehr häufig doppelseitige seröse oder serös-blutige Pleuritis, Hyperämie der Lunge und manchmal blutige Infarkte in derselben. Bei Hunden und Tauben fand sich nur eine Hyperämie der Lungen. Zuweilen, mit Ausnahme von Hunden, seröse Entzündung des Herzbeutels, mitunter Bluterguß unter das viscerele Blatt desselben.

3) Bei intravenöser Infektion der Tiere (im ganzen 3 Versuche an Kaninchen) finden pathologische Veränderungen statt, die vollkommen identisch sind mit denjenigen, die bei intraperitonealer Infektion beobachtet werden.

4) Bei intramuskulärer Infektion (6 Versuche an Tauben) beobachtete man in den Fällen, wo der Tod nach einigen Stunden oder am nächsten Tage eintrat, einen großen Herd von Nekrose des Muskelgewebes, in welches die Kultur injiziert worden war. Wenn jedoch die Tauben länger lebten, so unterlag der ganze nekrotisierte Herd der Vereiterung. Die Veränderungen in den Organen der Bauchhöhle sind dieselben, wie bei subkutan infizierten Tieren.

Brusthöhle: Bei 5 von 6 Tauben konstatierte man nichts Besonderes, in einem Falle jedoch (die Taube lebte 16 Tage nach der Infektion) wurde eine serös-blutige Entzündung des Herzbeutels nachgewiesen, die Lungen jedoch waren ohne Veränderung.

Von den der Krankheit erlegenen Tieren nahm man in allen Fällen das Blut, das Exsudat und nur selten den Urin zu Zuchtungsversuchen in Bouillon. Aus den Exsudaten und dem Urin gelang es immer, aus dem Blut in allen Fällen, außer einem (bei einer Katze, die am 19. Tage nach der Infektion starb), Reinkulturen des injizierten Mikroorganismus zu gewinnen.

Um einen Vergleich anzustellen, machte ich an Tieren verschiedene Infektionsversuche mit dem *B. paratyphosus* B und dem *B. enteritidis* Gärtner. Den *B. paratyphosus* B injizierte ich einem Meerschweinchen, einem Kaninchen und einer Taube in das Bauchfell und 3 Tauben in den Brustmuskel. Zu den Experimenten verwendete ich eine 2 Tage alte Kultur des *B. paratyphosus* B in einem Quantum von 2,4 ccm. Alle Tiere starben 24—36 Stunden nach der Infektion. Die Sektion ergab dieselben Veränderungen, die durch Injektionen des von mir isolierten Stäbchens hervorgerufen wurden. Aus Blut und Exsudat der Tiere, die durch den *B. paratyphosus* B getötet waren, züchtete ich immer Reinkulturen dieses Mikroorganismus.

Zu meinen Experimenten mit dem *B. enteritidis* G. nahm ich



1 Meerschweinchen, ein Kaninchen und 2 Tauben. Den *B. enteritidis* G. injizierte ich als 2-tägige Bouillonkultur in derselben Quantität, wie den *B. paratyphosus* B dem Kaninchen und dem Meerschweinchen in die Bauchhöhle und den Tauben in den Brustmuskel.

Die 2 ersten Tiere wurden gesund, nur verloren sie in den ersten 2 Wochen nach der Injektion sehr an Gewicht; die Tauben jedoch gingen ein, die eine am nächsten Tage, die andere nach 5 Tagen.

Die Veränderungen in den inneren Organen und im Brustmuskel beider Tauben waren vollkommen identisch mit den Veränderungen bei Tauben, die nach kurzer Frist an einer Injektion des von mir isolierten *Bacillus* eingegangen waren. Aus Blut und Muskelsaft beider Tauben wurden Reinkulturen des *B. enteritidis* G. gewonnen.

Außerdem injizierte ich in die Bauchhöhle dreier Meerschweinchen je 3 ccm einer durch den Chamberlain-Filter filtrierten 7-tägigen Bouillonkultur des von mir isolierten *Bacillus*, des *B. paratyphosus* B und des *B. enteritidis* G.; nur das 1. Meerschweinchen<sup>1)</sup> ging am nächsten Tage zu Grunde, die 2 anderen verloren etwas an Gewicht, erholten sich dann aber schnell. Die pathologisch-anatomischen Veränderungen der inneren Organe entsprachen in diesem Falle dem Bilde, das bei Tieren geschildert wurde, die dem von mir gezüchteten und unter die Haut injizierten *Bacillus* zum Opfer fielen. Alle oben angeführten vergleichenden Experimente an Tieren zeigen, daß alle 3 Bakterien im allgemeinen dieselbe Wirkung auf den Tierorganismus ausüben. Der Umstand, daß ein Meerschweinchen und ein Kaninchen, denen das Filtrat einer Bouillonkultur des *B. paratyphosus* B und des *B. enteritidis* G. injiziert worden war, am Leben blieben, widerspricht, meiner Ansicht nach, nicht der oben angeführten Behauptung. Dieser teilweise Mißerfolg läßt sich leicht durch eine Abschwächung der Virulenz des *B. paratyphosus* B und des *B. enteritidis* G. erklären, da die genannten Mikroorganismen lange Zeit auf künstlichen Nährböden gewachsen waren, was bekannterweise die Virulenz der Bakterien schwächt.

Wenn ich mich der Literatur zuwende, finde ich, daß die durch den *B. enteritidis* G. [siehe Van Ermengem (21), Drigalski (22) u. a.] und den *B. paratyphosus* B [siehe Konradi, Drigalski und Jürgens (9) u. a.] bei Infektion von Tieren stattfindenden pathologisch-anatomischen Veränderungen im allgemeinen den oben geschilderten, durch den von mir isolierten *Bacillus* bei Tieren hervorgerufenen Veränderungen sehr ähnlich sind.

So sagt z. B. Van Ermengem, daß der *B. enteritidis* G. bei Einführung in den Tierkörper stark entzündete, teils lokale, teils auf verschiedene Organe sich erstreckende Erscheinungen (eiterige Durchtränkung des subkutanen Zellengewebes, fibrinöse, exsudative Bauchfellentzündung, Entzündung von Magen und Darm, interstitielle Entzündung der Leber, lobuläre Pneumonie, Nephritis u. s. w.) hervorruft. Wenn die Virulenz des *B. enteritidis* G. abgeschwächt ist, so erzeugt er oft in großer Anzahl kleine Geschwüre oder miliare nekrotische Herde in der Leber und Milz u. s. w.

Eine der charakteristischen Eigentümlichkeiten des *B. enteritidis* G. und *B. paratyphosus* B ist bekanntlich der Umstand, daß sie Gifte absondern, die sich nur schwer durch hohe Temperatur ver-

1) Dem das Filtrat meines *Bacillus* injiziert worden war.

nichten lassen [Gärtner (20), Van Ermengem (21), Konradi, Drigalski und Jürgens (9) u. s. w.]: Kulturen, die 15 Minuten lang gekocht wurden, töten, in genügender Quantität einem empfänglichen Tiere injiziert, dasselbe unter den gleichen Erscheinungen, wie lebende Kulturen derselben Mikroorganismen. 4-tägige Bouillonkulturen des von mir isolierten *Bacillus* waren nach der 4. Passage im Wasserbad bis zum Siedepunkt erwärmt, 15 Minuten lang gekocht und dann rasch abgekühlt worden. Solche abgetötete Kulturen wurden 2 Meerschweinchen in einer Quantität von 7 ccm in die Bauchhöhle injiziert. Beide Meerschweinchen starben nach 2 Tagen an einer serös-fibrinösen Bauchfellentzündung. Das Exsudat erwies sich in beiden Fällen als steril.

Auf diese Weise komme ich auf Grund des oben Dargelegten zu der Schlußfolgerung, daß der von mir aus dem Hunde isolierte *Bacillus* zweifellos zu der Gruppe des *B. enteritidis* G. gehört; ich sage zu der Gruppe, weil die meisten Personen, die die verschiedenen Repräsentanten des *B. enteritidis* G. untersuchten, auf Grund des verschiedenen Verhaltens dieser Repräsentanten zum agglutinierenden Serum einige Untergruppen darin unterscheiden. So halten Van Ermengem (21) — 2, Drigalski (22) — 3, Trautmann (13) — 5 und Schottmüller (23) auf Grund derselben Agglutination den *B. enteritidis* G. für identisch mit dem *B. paratyphosus* B, Bonhoff (24) dagegen empfiehlt auf Grund der gleichen Annahme, den *B. enteritidis* G., *B. paratyphosus* B und *B. typhi* murium Löffl. für ein und denselben Mikroorganismen zu halten.

Bei der großen Bedeutung der Agglutination als diagnostische Methode nahm ich auch meine Zuflucht zu dieser Art bakteriologischer Untersuchung. Zu diesem Zwecke immunisierte ich ein Kaninchen und einen Hund durch subkutane Injektionen des von mir gezüchteten Stäbchens. Die Immunisierung des Kaninchens begann ich mit Injektionen abgetöteter Kulturen und ging dann zu lebenden Kulturen über. Zu meinem größten Bedauern starb das Kaninchen nach der 6. Injektion, am 32. Tage nach Beginn der Immunisierung. Die Sektion ergab dasselbe Bild, wie bei Tieren, die an subkutaner Injektion des genannten Mikroorganismus eingegangen waren, mit dem einzigen Unterschiede, daß die Leber von gelben Knoten verschiedener Größe durchsetzt war; beim Aufschneiden dieser Knoten sonderte sich dicker, gelblicher Eiter ab; die Gallenblase war mit Eiter gefüllt, der denselben Charakter trug. Der Eiter erwies sich als steril, aber aus dem Blute gelang es, den injizierten *Bacillus* zu züchten. Der Hund erhielt im Laufe von 38 Tagen bei 6maliger Injektion 55 ccm 2-tägiger Bouillonkultur desselben Mikroorganismus. Die Immunisierung ertrug er sehr gut. Das Blutserum agglutinierte den entsprechenden Mikroorganismus im Verhältnis von 1:1600. Mit diesem Serum machte ich Agglutinationsversuche sowohl mit dem von mir isolierten *Bacillus*, als auch mit dem *B. paratyphosus* B und *B. enteritidis* G. Die Experimente wurden in gewohnter Weise ausgeführt; die Beobachtung der Agglutination wurde nur makroskopisch — im Laufe von 2 Stunden — gemacht.

Ich führe die Resultate dieser Experimente in Gestalt einer Tabelle (p. 706) an. Das Zeichen + bedeutet positive Resultate, das Zeichen — negative.

Auf diese Weise agglutinierte das von mir bereitete Serum den homologen Mikroorganismus bei einer Verdünnung von 1:1600, der *B. paratyphosus* B bei 1:800 und der *B. enteritidis* G. gar

Tabelle II.

Agglutination mit Serum eines Hundes des aus dem Hunde isolierten Bacillus, des *B. paratyphosus* B und des *B. enteritidis* Gärtner.

Verdünnung	<i>B. paratyphosus</i> <i>B. e cane</i>	<i>B. paratyphosus</i> B	<i>B. enteritidis</i> Gärtner
1:50	+ 15 Min.	+ 15 Min.	—
1:100	+	+	—
1:200	+ } 1 Std.	+ } 1 Std.	—
1:400	+	+ 1 1/2 Std.	—
1:800	+ 1 1/2 Std.	+ 2 Std.	—
1:1600	+ 2 Std.	—	—
1:3200	—	—	—

nicht. Auf Grund der jetzt angenommenen Ansicht in betreff der Agglutination muß ich annehmen, daß der von mir isolierte Bacillus dem *B. paratyphosus* B näher steht, als dem *B. enteritidis* G.

Somit muß ich auf Grund des oben Dargelegten den in Frage stehenden Bacillus der Gruppe *B. paratyphosus* B einreihen, da jedoch bis jetzt der *B. paratyphosus* B bei Hunden nicht konstatiert worden war, so entschieße ich mich, um seinen Ursprung im gegebenen Falle zu betonen, der Benennung *B. paratyphosus* B — *e cane* hinzuzufügen.

Die Tatsache, daß ich bei einem vollkommen gesunden Hunde den *B. paratyphosus* B gefunden, hat, meiner Ansicht nach, eine gewisse Bedeutung für die Aetiologie des Paratyphus.

Der Hund ist das dem Menschen am nächsten stehende Haustier; wenn er die Fähigkeit besitzt, in vollkommen gesundem Zustande den *B. paratyphosus* B. in seinem Organismus zu tragen und durch die Exkremente abzusondern, so kann er leicht die ihn umgebenden Menschen und sogar den Boden infizieren. Dieses, scheint mir, ist vollkommen genügend, um auf den Hund als einen der Verbreiter des Paratyphus hinzuweisen; auf diese Weise kann man vielleicht die scheinbar grundlosen, sporadischen Fälle von Paratyphus oder sogar das Entstehen von Epidemien erklären.

Als Ergänzung zu dem oben Gesagten füge ich noch hinzu, daß der von mir gezüchtete *B. paratyphosus* B *e cane* eine große Lebensfähigkeit besitzt. Auf Milch kultiviert, ist er nach 1 Jahr und 4 Monaten noch lebend und virulent.

Eine vorhergehende Analyse der Milch, die ich unter der Leitung von Frau Dr. N. O. Sieber-Schoumoff vornahm, erwies, daß der *B. paratyphosus* B *e cane* die Milch gar nicht peptonisiert, was bei der ganzen Gruppe *B. enteritidis* Fischer (25) voraussetzt; das Durchsichtigwerden der Milch hängt von der fortwährenden, durch die Bakterien hervorgerufenen Steigerung der Alkaleszenz ab.

Zum Schluß erlaube ich mir, der Leiterin der chemischen Abteilung des Instituts für experimentelle Medizin, Frau Dr. N. O. Sieber-Schoumoff, für ihre liebenswürdige Gastfreundschaft und das meiner Arbeit entgegengebrachte Interesse zu danken, ebenso auch dem Oberarzt des Kijeffschen Lazarets vom roten Kreuz in der Stadt Tschita, Dr. J. A. Jutzewitsch, für seine Beteiligung an der Einrichtung eines klinischen Laboratoriums bei meiner Abteilung, was mir die Möglichkeit gab, meine durch den Krieg unterbrochene Arbeit fortzusetzen.

**Literatur.**

- 1) Schottmüller, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXVI.
- 2) Hoffmann, Hyg. Rundsch. 1902. p. 835.
- 3) Korte, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLIV.
- 4) Segin, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV.
- 5) Luksch, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV.
- 6) Pratt, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. XXXIII.
- 7) Beliajeff, Ruski Wratsch. 1903. p. 752. [Russisch.]
- 8) Levi-Serugue, Arch. gén. de méd. Année LXXX. 1903. T. II. No. 27.
- 9) Conradi, Drigalski und Jürgens, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLII.
- 10) Kurth, Dtsche med. Wochenschr. 1902.
- 11) Fischer, Festschr. z. 60. Geburtstage von R. Koch. Jena 1903.
- 12) Brion u. Kayser, Münch. med. Wochenschr. 1902.
- 13) Trautmann, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLV u. XLVI.
- 14) Paladino-Blandini, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. XXXVII.
- 15) Matzuschita, Bakt. Diagnostik. p. 320.
- 16) Günther, Lehrb. d. Bakteriologie. Russ. Uebersetzung von Dr. P. K. Galler. 2. russ. Aufl. p. 415. [Russisch.]
- 17) Kitt, Bakterienkunde. 4. Aufl. p. 333.
- 18) Kruse bei Flügge, Die Mikroorganismen. 3. Aufl. p. 375—376.
- 19) Macé, Traité pratique de bactériologie. 4<sup>me</sup> édition. p. 780.
- 20) Gärtner, Cit. nach Van Ermengem bei Kolle u. Wassermann, Handb. d. pathog. Mikroorg. Bd. II. p. 641.
- 21) Van Ermengem, Bull. acad. de méd. Belgique. 1892. p. 1025 u. bei Kolle und Wassermann, Handb. d. pathog. Mikroorg. Bd. II. p. 650.
- 22) Drigalski, Festschr. z. 60. Geburtstage von R. Koch. Jena 1903.
- 23) Schottmüller, Münch. med. Wochenschr. 1904. No. 7.8.
- 24) Bonhoff, Arch. f. Hyg. Bd. L. p. 222.
- 25) Fischer, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXIX.
- 26) Omelianski, W., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. p. 1 u. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. XIV. p. 673.

---

*Nachdruck verboten.*

## Ueber eine pestähnliche Erkrankung der Meerschweinchen.

[Aus dem Institute für allgemeine und experimentelle Pathologie in Graz (Vorstand: Prof. R. Klemensiewicz).]

Von **Karl Byloff**, Assistenten am Institute.

Mit 2 Tafeln.

Anfangs Mai 1904 trat in unseren Tierstallungen plötzlich eine epidemieartig sich verbreitende Krankheit auf, die hauptsächlich die Meerschweinchen befiel. Im Verlaufe von 5—6 Wochen gingen viele dieser Tiere an dieser Krankheit zu Grunde. Erkundigungen bei anderen in demselben Neubaue untergebrachten medizinischen Instituten ergaben die Tatsache, daß auch dort die Meerschweinchenseuche annähernd um dieselbe Zeit und unter denselben pathologisch-anatomischen Erscheinungen aufgetreten war. In unserem Institute selbst befindet sich die Tierklinik, ein besonderer Raum, in einem höher gelegenen Stockwerke als die Tierställe, und auch hier fand die Epidemie unter den Meerschweinchen ihren Eingang, obwohl zu der damaligen Zeit keine frischen Tiere aus den Zuchtställen hinzugekommen waren und überdies die Tiere in Käfigen voneinander getrennt gehalten werden. In beiden Räumen, den Tierställen und auf der Tierklinik, wurde aber das gleiche Futter verfüttert und das gleiche Wartepersonal verwendet. Auffallend war

außerdem, daß einige im Laboratorium zu Stoffwechseluntersuchungen gehaltene Meerschweinchen, die abgesondert, aber von demselben Diener wie die übrigen gewartet waren, alle auch heute am Leben und vollständig gesund sind. Diese Tiere wurden mit Rüben, Brot und Hafer gefüttert, während die anderen Meerschweinchen, unter denen die Seuche herrschte und der auch gegen 200 Tiere erlagen, außer mit Rüben und Heu, in der kritischen Zeit auch mit neuem, frischem Grünfutter versorgt wurden.

Was die klinischen Erscheinungen, die die betroffenen Tiere boten, anlangt, so waren außer weiter unten zu besprechenden Lähmungserscheinungen keine objektiv auffälligen Krankheitssymptome bemerkbar. Die Tiere waren trotz des chronischen Charakters der Krankheit bis wenige Stunden vor dem Tode anscheinend vollständig frisch, kauerten sich dann in eine Ecke des Käfigs, legten sich, wie stark ermüdet, zur Seite und unter Dyspnoë und heftigen Muskelzuckungen trat der agonale Zustand und bald darauf der Tod ein. Freßlust und alle übrigen physiologischen Funktionen waren bis zu dem eben geschilderten Ende unverändert erhalten. Bei Palpation des Abdomens fielen oft schon in frühen Stadien der Krankheit Tumoren auf, die manchmal so groß waren, daß sie von dem Wärter für Föten gehalten wurden.

5 der erkrankten Tiere zeigten ausgesprochene Lähmungserscheinungen an den hinteren Extremitäten. Die Sektion dieser Tiere ergab ungewöhnlich vergrößerte Lymphdrüsen, die tief im Becken gelagert und einige Male mit dem unter ihnen liegenden Nervenplexus verklebt oder verwachsen waren. Aller Wahrscheinlichkeit hatten diese Tumoren durch ihren Druck auf die Nervenstämmе die Lähmung verursacht, welche demnach durch dieses mechanische Moment bedingt war, da andere Ursachen derselben nicht auffindbar waren. Diese Ansicht gewinnt dadurch die größte Wahrscheinlichkeit, daß unter mehreren Hunderten von erkrankten Tieren nur wenige solche Lähmungen zeigten, bei allen aber die Anzahl und Größe der in der Tiefe des Beckens liegenden Tumoren eine ganz besonders beträchtliche war. Abmagerung der Tiere war nur in den seltensten Fällen zu konstatieren. Der Obduktionsbefund zeigte immer dasselbe typische Bild. Nach Abtragung des Haarkleides schimmerten durch die Muskelschicht und durch das etwas verdickte, stark gerötete Peritoneum mehrere gewöhnlich in der Medianlinie liegende, gelb-rötliche Geschwülste von wechselnder Größe durch. Nach Eröffnung der Bauchhöhle flossen in der Regel einige Kubikcentimeter einer gelblichen, ziemlich klaren Flüssigkeit ab, die häufig blutig verfärbt war. Die Geschwülste erwiesen sich als in Lymphdrüsenpaketen liegende haselnuß- bis walnusgroße Tumoren, die in den Blättern des Mesenteriums eingebettet lagen und von einem reichlich injizierten Gefäßnetze umsäumt waren. Jeder Tumor besaß eine auffallend derbe, nur schwer durchtrennbare Kapsel. Nach Eröffnung der Kapsel floß der Inhalt als dünnflüssiger, rahmartiger Eiter ab. In einigen Fällen war der Eiter käsig verdickt. In der Beschaffenheit des Tumoralinhaltes nämlich herrschte eine große Mannigfaltigkeit, so daß die beiden Konsistenzgrade nur als die Extreme vieler Zwischenstufen zwischen flüssiger und fester Form bezeichnet werden dürfen.

Schon die Konstanz der topographischen Lage der im Gekröse eingelagerten, als Beulen oder Bubonen zu bezeichnenden Tumoren ließ die Vermutung aufkommen, daß dieselben aus Lymphdrüsen hervorgegangen seien. Die mikroskopische Untersuchung bestätigte diese Annahme.

Fast immer waren es 2—3 Lymphdrüsen im Mesenterium des bei den Meerschweinchen sehr großen Processus vermiformis, die sich in erster Linie den frühen Stadien der Krankheit von der Infektion ergriffen zeigten, außerdem waren auch die Lymphdrüsen des Mesenteriums, das zum Colon descendens, der Flexura sigmoidea und dem Endstücke des Darmes in Beziehung steht, häufig ergriffen. Die erkrankten Drüsenpakete waren durch reichliche Bindegewebswucherungen mit der Nachbarschaft verwachsen. Die Verwachsungen waren oft sehr feste und ausgedehnte. Außer in den Lymphdrüsen des Mesenteriums, von denen der Prozeß in der Bauchhöhle auszugehen schien, fanden sich die gleichen pathologischen Veränderungen auch an anderen Lymphdrüsen der Bauchhöhle und auch an solchen Stellen im Peritonealraume, welche frei von Lymphdrüsenpaketen sind. So ist das Omentum gewöhnlich mehr oder minder mitbetroffen und stellte in den extremsten Fällen eine derbe, ca. 15—20 g wiegende unförmliche Masse dar, die nur nach ihren äußeren Umrissen und ihrer topographischen Lage nach als Netz erkannt werden konnte. Augenscheinlich ist diese Masse aus zahllosen kleinen Knötchen entstanden, die beim Auseinanderzerren des Netzes noch hie und da in dessen Gewebe zu erkennen sind und die sich in frühen Stadien der Krankheit, bevor es zur Bildung größerer Beulen gekommen ist, oft in großer Menge im Netze vorfinden. Solche Bilder erinnern unwillkürlich an jene Veränderungen des Netzes bei Meerschweinchen, die mit virulenten Tuberkulosebacillen intraperitoneal geimpft wurden und das Bild der „Knötchentuberkulose“ darbieten.

Die Leber ist oft in bedeutendem Maße vergrößert. Sie zeigt an ihrer Oberfläche Knötchen, die bald hirsekorn-, bald kirschkerngroß sind, die aber auch nicht selten die Größe einer kleineren Kirsche erreichen können.

Die Knoten ragen halbkugelförmig aus der Leberoberfläche hervor und besitzen an der Basis dort, wo sie in das Gewebe eintauchen, einen lebhaft injizierten Gefäßkranz und eine sehr derbe Kapsel, die selbst für einen ziemlich starken Platindraht kaum durchdringbar ist. Die Knötchen der Leber enthalten ganz so wie die der Lymphdrüsen Eiter, der je nach dem Stadium der Krankheit verschiedene Konsistenzgrade aufweisen kann. Wie bei den Mesenterialdrüsenknoten, sind auch in der Leber besonders die größeren Knötchen teils mit dem Zwerchfelle, teils mit den Darmschlingen durch Bindegewebszüge verbunden.

Die Milz ist ebenfalls ein konstant ergriffenes Organ mit denselben pathologisch-anatomischen Veränderungen wie die Leber. Sie kann oft enorm vergrößert und durch die aufsitzenden Knötchen in eine unförmliche Masse verwandelt sein.

In ähnlicher Weise verhält sich auch manchmal das Pankreas, ist aber bei weiten nicht so konstant ergriffen wie Leber und Milz.

Die Nieren sind nie beteiligt, auch bei mikroskopischer Untersuchung fand ich sie stets frei von pathologischen Veränderungen. In der Nebenniere fand ich nur einmal miliare Knötchen.

Der Magen- und Darmkanal ist bei spontan gefallenem verhältnismäßig wenig in Mitleidenschaft gezogen.

In mehreren Fällen, die augenscheinlich früheren Krankheitsstadien entsprachen, fanden sich im Processus vermiformis in der Linie des Mesenterialansatzes, im Colon ascendens und Colon transversum, kleine Knötchen.

Die Genitalorgane waren meist frei, nur einmal fand ich in einem anscheinend graviden Uterus 3 durch Septa abgesonderte, aus dicht aneinander liegenden Zellen bestehende abgesackte Exsudate, die eine Unzahl von den unten näher zu besprechenden Bacillen enthielten<sup>1)</sup>.

Der Pleurasack enthält gewöhnlich eine seröse, blutig verfärbte Flüssigkeit mit Fibrinflocken. Bei großem Fibringehalte des Exsudates findet man Verklebungen der Pleurablätter untereinander, auch der Perikardialsack ist oft von einer abnorm großen Flüssigkeitsmenge erfüllt.

Die Lungen waren im Vergleiche mit den anderen Organen selten von Knötchen durchsetzt und niemals erreicht der Prozeß in der Lunge einen derartigen Grad der Ausbildung wie im Mesenterium, Omentum, in der Leber oder Milz. Meist waren in der Lunge, wenn sie überhaupt eine makroskopisch kenntliche Veränderung zeigte, nur wenige kleine Knötchen vorhanden.

Das Herz war stets frei, nur in 2 Fällen fanden sich im Pericardium einige kleine typische Knötchen.

Sehr häufig waren die retrosternalen Lymphdrüsen sichtlich geschwellt und vergrößert. Beulenbildung so wie in den Mesenterialdrüsen konnte ich hier niemals beobachten.

Im Oesophagus, in der Trachea und im Pharynx wurde nur einige Male nach pathologischen Veränderungen gesucht, aber nie etwas Abnormes gefunden.

Im Vorstehenden habe ich versucht, einigermaßen das Bild zu entwerfen, wie es die Sektion ergab, es war stets der gleiche pathologisch-anatomische Befund.

Diese auffallenden Erscheinungen veranlaßten mich, gleich von allem Anfang an, die Ursachen dieser Epidemie zu studieren und womöglich den Krankheitserreger festzustellen.

Ich verimpfte von einem der ersten mir unter die Hände gekommenen Tiere den Eiter aus Lymphdrüsen-, Leber- und Milzabscessen, ferner aus Herzblut, und konnte sehr bald in einer Reinkultur einen kurzen, plumpen Bacillus erhalten, der aus mehrfachen Gründen als der gesuchte Infektionserreger anzusehen war. Aus den Knötchen und Beulen jedes mit dem geschilderten pathologisch-anatomischen Befunde zur Sektion gekommenen Tieres war diese Bacillenart züchtbar und auch der weitere Gang der Untersuchungen kennzeichnete diese Mikrobenart als spezifischen Krankheitserreger. Hier will ich gleich bemerken, daß man Kulturen des Bacillus mit sicherem Erfolge aus dem Peritoneal- und Pleuraexsudate, aus dem Herzblute, aus den Knötchen der Leber und allen erkrankten anderen Organen, auch aus den geschwellten Lymphdrüsen erhält, wenn der Prozeß nicht allzuweit vorgeschritten ist.

Aus käsig verdickten Eiterherden lassen sich nur höchst selten Kulturen gewinnen. Hier scheinen die Bacillen größtenteils vernichtet oder zum mindesten vegetationsunfähig zu sein, denn in den Ausstrichpräparaten solchen Eiters sind nur mit der größten Mühe einige spärliche Bacillen nachweisbar, in den meisten Fällen findet man überhaupt keine.

1) Föten enthielt der Uterus keine, dagegen eine Anzahl (3) solcher nahezu sphärischer Tumoren, die nach ihrer Lagerung bei makroskopischer Untersuchung als Föten imponierten. Doch muß ich es dahingestellt sein lassen, ob die Geschwülste durch frühzeitige Infektion fötaler Keime entstanden seien, da die mikroskopische Untersuchung in Bezug auf den Nachweis fötaler Gewebe völlig negativ war.

Diese mikroskopischen Befunde, die ja für sich kein zwingender Beweisgrund für die Abwesenheit der Bacillen wären, da man ja außer vielen anderen Momenten auch eine schlechtere Färbbarkeit in Betracht zu ziehen hätte, werden jedoch durch die zu gleicher Zeit angestellten Kulturversuche bestätigt, die bei derartig beschaffenem Verimpfungsmateriale ebenfalls in der überwiegenden Mehrzahl negativ ausfallen.

In den aus frischen Leichenteilen angefertigten Ausstrichpräparaten des Eiters, die mit Formolalkohol fixiert und mit den gewöhnlichen Anilinfarben gefärbt wurden, zeigten sich neben den betreffenden Gewebezellen, mit mehr oder minder ausgesprochener Kerndegeneration, viele Eiterkörperchen, und meist in Häufchen angeordnete kurze, plumpe, an beiden Enden abgerundete, etwa 3—4mal so lange als breite Stäbchen. Dieselben nahmen die gebräuchlichen Anilinfarben nur schwer auf und erschienen dadurch gegenüber den satt tingierten Zellkernen auffallend blaß, so daß sie in den Fällen, wo sie nur spärlich in dem Gewebe eingestreut waren, dem mikroskopischen Nachweise leicht entgehen konnten. Bei Anwendung von alkalischem Methylenblau nehmen die Bacillen einen blauvioletten Ton an, zeigen aber auch fast regelmäßig, gerade so wie mit gewöhnlichem Methylenblau gefärbte, eine ausgesprochene Polfärbung. Dieselbe erstreckt sich von der durch die Abrundung des Bacillenendes bedingten Kuppe ein kurzes Stück gegen die Mitte zu, um dann scharf gegen das ganz licht gefärbte Mittelstück des Bacillenleibes abzuschneiden.

Bei Durchmusterung solcher Präparate fällt es sofort auf, daß die Bacillen in Bezug auf Größe und Gestalt verschieden sind. Man findet bald längere, bald kürzere und wohl auch anscheinend dickere neben schlankeren.

Diese Verschiedenheiten fallen um so mehr auf, da, wie schon erwähnt, diese Bacillen meist zu Häufchen angeordnet sind. Kettenbildung oder längere Fäden habe ich in derartigen Präparaten nie beobachten können, dagegen kommen als Ausdruck eben vollendeter Teilung eng aneinanderliegende Bacillen, Diplobacillen, sehr häufig vor.

In Schnittpräparaten präsentieren sich dagegen die in den feinen, fadenförmigen Lymphspalten und Gewebelücken liegenden Bacillen in der Form von Ketten, die ich aber nur als eine durch die Form der Gewebespalten bedingte Anordnung betrachte. In den Kulturmedien bilden die Bacillen keine Ketten.

In den Schnittpräparaten färben sich die Bacillen bedeutend schwerer. Auch in den Schnitten schwankten Größe und Form eher noch mehr als in den Organausstrichen. Ebenso kommen in den Schnitten neben großen Formen ganz kleine, fast kokkenähnliche vor, die, wenn sie zu zweien enge aneinanderliegen, das Bild von Diplokokken darbieten. Die Gruppenbildung der Bacillen ist begreiflicherweise in den Schnitten sehr deutlich zu sehen, tritt dagegen in den Kulturausstrichen in den Hintergrund.

Was die Färbung des Bacillus anlangt, so möchte ich dem früher Erwähnten noch einige Bemerkungen beifügen. Die frischen, dem Tiere entnommenen Präparate und die Ausstriche aus Reinkulturen unterscheiden sich insofern, als die Ausstriche von Blut oder Organsäften die Bacillen weniger stark gefärbt zeigen als die Kulturausstriche. Diese Verschiedenheit in der Intensität der Farbstoffaufnahme ist ein charakteristisches Merkmal derjenigen Bacillen,



die der großen Gruppe septikämischer zugehören, in die auch unser Bacillus, wie sich zeigen wird, einzureihen ist.

Was die Polfärbung anbelangt, so ist gewöhnliches sogenanntes wässeriges Methylenblau das einfachste Mittel, um dieselbe recht gut zur Anschauung zu bringen. Aber auch ein Kunstgriff scheint dabei recht förderlich zu sein, auf den Sobernheim<sup>1)</sup> und Kossel hingewiesen haben. Er beruht darauf, die lufttrockenen Präparate nicht, wie gewöhnlich, in der Flamme, sondern in absolutem Alkohol oder in dem von mir fast immer angewandten Formolalkohol zu fixieren. Durch die Fixierung des Präparates in der Hitze wird das Protoplasma des Bacillenleibes stark beeinflusst und es scheinen dadurch Struktureigentümlichkeiten verloren zu gehen, von denen die Polfärbung abhängig ist. Irgendwelche Differenzierungen in schwacher Essigsäure oder dergleichen waren bei dem färbereischen Verfahren zur Herstellung der Polfärbung bei diesen Bacillen nicht notwendig.

Sehr schöne Bilder bekommt man bei Anwendung der Romanowsky- oder Leishman-Färbung bei Gewebeausstrichen oder Blutpräparaten, in denen der Bacillus oft in sehr geringer Anzahl und wahrscheinlich auch nur in bestimmten Phasen der Krankheit zu sehen ist.

(Fortsetzung folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Ueber den Streptococcus mucosus und seine Unterscheidung von anderen Streptokokkenarten.

[Aus dem hygienischen Institut zu Kiel. Direktor Prof. Fischer.]

Von Dr. Gerh. Schumacher,

Assistenten am Untersuchungsamt für ansteckende Krankheiten.

(Schluß.)

Bouillon ließ, wenn das Wachstum nicht ganz ausblieb, eine leichte bleibende Trübung erkennen, oder trübte sich häufiger in den ersten Stunden, klärte sich dann wieder, während sich ein fadenziehender Bodensatz bildete. Blutzusatz von ca. 2 Proz. besserte das Wachstum, Hämolyse trat nicht auf, die Bouillon trübte sich und nahm eine grünliche Färbung an, hellte sich nicht wieder auf; das an den Boden sinkende Blut wurde braun-violettrot.

Milch koagulierte nach 24—48 Stunden. Lackmus-Laktose wurde verschieden stark gerötet.

Gasbildung wurde nicht beobachtet.

Wie das Tiefenwachstum in Schüttelkulturen ein gutes war, so gelang auch die Züchtung auf Blutagar unter anaëroben Bedingungen gut.

Die Lebensfähigkeit auf künstlichen Nährböden war beschränkt. Von Loefflerschem Serum ließ sich der Streptococcus nach 14 Tagen meist nicht mehr übertragen, doch konnte er vereinzelt aus dem Kondenswasser noch nach 4 Wochen, einmal nach 7 Wochen, gezüchtet werden. In Blutagarröhrchen blieb er 2 Monate und länger lebensfähig, manchmal noch in den vertrockneten Kolonien, fast immer im Kondens-

1) Kossel und Overbeck, Bakteriologische Untersuchungen über Pest. (Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. XVIII. 1901.)

wasser. Agar, Gelatine etc. eigneten sich nicht zum Aufbewahren der Stämme. Versuche, die Heim mit Antrocknenlassen an Seidenfäden machte, wurden nicht nachgeprüft. Schon bei der Verimpfung von frischem Material war Schottmüller aufgefallen, daß verhältnismäßig wenig Keime aufgehen, bei länger aufbewahrtem Material war diese geringe Wachstumsenergie noch viel auffallender.

Weiß Mäuse gingen stets in 20—70 Stunden nach subkutaner oder intraperitonealer Injektion, gleichgültig ob junger oder alter Kultur, ein unter septikämischen Erscheinungen; bei intraperitonealer Injektion fand sich gallertiger Erguß mit Fibrinausschwitzungen im Peritoneum; bei subkutaner Injektion war die Peritonitis selten so stark, die Milz war ein wenig geschwollen, wie das Lewkowicz als hauptsächliche Veränderung angeben.

Es fand sich ein Absceß an der Injektionsstelle mit weitverbreitetem solzigem Oedem der Umgebung und starker Drüsenschwellung. Stets konnten in den Organen, im Peritoneum, Pleura und Herzblut, reichlich Kapselkokken, meist in Doppelform, aber auch einzeln oder in kurzen Ketten nachgewiesen und der Str. mucosus in Reinkultur gezüchtet werden.

Noch mit  $\frac{1}{40}$  Oese wurde der Tod einer Maus herbeigeführt. Zumeist wurden  $\frac{1}{2}$  bis  $\frac{1}{10}$  Oese Loeffler-Serumkultur zur Injektion verwandt.

Meerschweinchen (mit 1 Oese Agar oder Glycerinagar resp. Loeffler-Serumkultur oder  $\frac{1}{2}$ —1 ccm Bouillon subkutan oder intraperitoneal gespritzt) gingen nach 3—11 Tagen unter denselben Erscheinungen wie Mäuse ein. Das Peritonealexsudat war meist sehr reichlich, mit Fibringerinnseln vermischt, häufig solche Fibrinauflagerungen am Hoden, wie es auch Lewkowicz und Neumann beobachtet haben. Einzelne Meerschweinchen bekamen auch nur Geschwüre oder blieben überhaupt gesund. Bei direkter Ueberimpfung von Peritonealexsudat ( $\frac{1}{4}$ —1 ccm, Versuche die Herr Prof. Fischer 1902 gemacht) schien der Tod eher, nach 40—80 Stunden, einzutreten.

Kaninchen waren resistenter; 2 mit Kultur ( $\frac{1}{2}$ —1 Oese) geimpfte gingen nicht ein, während 3 mit Peritonealexsudat (vom Meerschweinchen,  $1\frac{1}{2}$ — $2\frac{1}{2}$  ccm) geimpfte nach 3—7 Tagen starben.

Die hohe Pathogenität, besonders für Mäuse, erwähnen die meisten Untersucher.

Während der Untersuchungen sind eine Reihe anderer Streptokokkenstämme gezüchtet und zu vergleichenden Untersuchungen möglichst solche Stämme, welche irgendwelche Eigenheiten aufzuweisen schienen, benutzt worden; neben manchen anderen Bakterien, wie Meningokokken, Friedländers Diplobacillen, die leicht von den Streptokokken auszukennen sind, wurden die 3 oben erwähnten von Schottmüller aufgestellten Arten geprüft.

Wie Weichselbaum und andere, so betonte Schottmüller das verschiedene Verhalten mancher Pneumokokkenstämme, wofür auch hier bei den aus Pneumonikersputum, Otitis, Meningitis und Rachensekret gezüchteten Stämmen Beispiele gefunden wurden. Die meisten Stämme, darunter auch 1 Stamm, der aus einer Spontanepidemie unter dem Meerschweinchenbestande in 12 Fällen gezüchtet wurde, verhielten sich untereinander gleich.

Vor dem Streptococcus mucosus war der Pneumococcus ausgezeichnet durch eine lanzettförmige Gestalt, die in jungen Kulturen

besonders gut ausgeprägt war; ältere Kulturen zeigten oft runde Formen und längere Ketten, nahmen aber beim Uebertragen in den Tierkörper die Lanzettform wieder an, wie das auch andere Untersucher betonen.

Auch durch Ueberimpfung auf einen neuen Nährboden ließ sich, wenn nach längerer Züchtung auf demselben (z. B. Blutagar) die Lanzettform allmählich der runden gewichen war, oft das typische Aussehen wieder erzielen, wie Fränkel es ähnlich beschreibt. Involutionsformen waren bei beiden Streptokokken recht häufig, auch im Tierkörper; hier zeigte der *Str. lanceolatus* etwa ebenso oft runde Formen, wie der *Str. mucosus* längliche aufwies; beide umgaben sich dabei mit einer Kapsel, die aber beim *Pneumococcus* auf Kulturen nicht oder wenigstens nie in so ausgeprägter Weise darstellbar war, wie beim *Str. mucosus*.

Während das Wachstum auf Gelatine und Bouillon auch bei Blutagar keinen sicheren Unterschied erkennen ließ, wuchs der *Str. lanceolatus* auf gewöhnlichem Nähragar in kleinen grauen Kolonien; auch auf Lackmus-Laktose-Agar und auf Loeffler-Serum wurde nie so üppiges Wachstum beobachtet, auf letzterem Nährboden war es leicht, die kleinen, zuweilen glasigen oder leicht weißlich bis grünlichweiß gefärbten Kolonien von den großen *Mucosus*-Kolonien zu unterscheiden. In seinem Anspruch an die Temperatur verhielt er sich ähnlich wie der *Str. mucosus*, während die Lebensfähigkeit resp. Uebertragungsmöglichkeit auf allen benutzten Nährböden in kürzerer Zeit abnahm; auch auf Blutagar starb er eher, oft in wenigen Tagen ab (im Gegensatz zu Rynowitsch, der von hämoglobinhaltigen Nährböden den *Str. lanceolatus* bis zu 2 Monaten wachstumsfähig erhielt.) Zudem zeigten ältere Stämme eine Verringerung oder Fehlen der Virulenz bei Verimpfung auf weiße Mäuse (bei Verwendung junger Stämme trat der Tod innerhalb 2 Tagen ein, während alte Stämme erst nach 5–6 Tagen oder überhaupt nicht den Tod herbeiführten), während Meerschweinchen sich bei subkutaner Injektion meist völlig refraktär verhielten.

Der *Str. viridans s. mitior* (nach Schottmüller) wurde wiederholt im Halse, einmal auch im Eiter einer Phlegmone, gefunden. Es machte keine Schwierigkeit, ihn vom *Str. mucosus* zu trennen, da er stets in kleinen punktförmigen Kolonien wuchs; von einzelnen Pneumokokkenstämmen dagegen unterschied er sich besonders auf Blutagar makroskopisch nicht. Die im hiesigen Institut gefundenen morphologischen wie kulturellen Eigentümlichkeiten dieser Streptokokkenart stimmten so sehr mit den von Schottmüller angegebenen überein, daß auf eine nähere Beschreibung unter Hinweis auf die kurze Tabelle verzichtet werden kann, zumal ein uns aus dem Eppendorfer Krankenhaus von Herrn Prof. E. Fränkel zur Verfügung gestellter Stamm die Identität der eigenen Stämme mit den Schottmüllerschen bestätigte. Gerade dieser Stamm hatte seine Fähigkeit, auf Blutagar einen grünlichen Farbstoff, d. h. eine Umwandlung des Blutfarbstoffes zu bilden, fast völlig eingebüßt, eine Eigenschaft, die unsere älteren Stämme ebenfalls aufwiesen.

Der *Str. erysipelatos s. longus* (nach Schottmüller) wurde am häufigsten bei Eiterungen und im Halse gefunden. Vor allen anderen Streptokokken war er kenntlich durch die Aufhellung des Blutagars in etwas wechselnd breiter Zone um die Kolonien herum; solche Aufhellung in schmaler Zone brachten die 3 anderen Streptokokken bei geringem Blutzusatz erst nach Verlauf längerer Zeit, die von der Konzentration des Gemisches abhängig war, aber nicht stets, hervor.

	Loefflserum	Blutagar	Lackmus-Laktose-Agar	Bouillon	Blutbouillon	Agar	Gelatine	Temperaturanspruch	Uebertragungszeit
Str. mucosus	bis überlinsengroß, glasig schleimig-klar, später vertrocknend	bis linsengroß, Grünfärbung im Bereich der Kolonie, vertrocknend	klar, kleintropfenähnlich, ohne Rötung, vertrocknend	diffus getrübt, später klar mit fadenziehendem Bodensatz	diffus getrübt, diffus gerübt, keine Hämolyse	klar, kleintropfenähnlich, später vertrocknend	graubläulich, feucht-glänzend, bis überstecknadelkopfgroß	nicht (oder sehr selten) unter 21°	2–3 Monate, oft weniger, aus Kondenswasser von Blutagar
Str. lanceolatus	bis wenig überstecknadelkopfgroß, klar, weißlich oder grünlichweiß	bis linsengroß, Grünfärbung im Bereich der Kolonie, später vertrocknend	wenig überstecknadelkopfgroß, keine Rötung	diffus getrübt, später klar mit fadenziehendem Bodensatz	diffus getrübt, diffus gerübt, ohne Hämolyse	bis stecknadelkopfgroß, grau	grau, bis stecknadelkopfgroß	nicht (oder sehr selten) unter 21°	bis 14 Tage (von Blutagar)
Str. mitior	punktförmig, klar oder weiß glänzend	bis stecknadelkopfgroß, Grünfärbung im Bereich der Kolonie	bis stecknadelkopfgroß, weiß, Rötung	diffus getrübt, bald klar mit krümligem Bodensatz	diffus getrübt, diffus gerübt, ohne Hämolyse	bis stecknadelkopfgroß, weißgrau	grau, punktförmig	auch unter 20°	4–5 Monate (Gelatine)
Str. erysipelatos a) häufigere Form	punktförmig, grau bis weiß, bis dickstecknadelkopfgroß	bis dickstecknadelkopfgroß, Aufhellung bis zu einem Umkreis von 3 mm	bis stecknadelkopfgroß, Rötung	diffus getrübt, bald klar mit krümligem Bodensatz	diffus getrübt, diffus gerübt, später aufklärend, Burgunderfärbung	bis stecknadelkopfgroß, grau	grau, punktförmig	auch unter 20°	4–5 Monate (Gelatine)
Str. erysipelatos b) seltenere Form	bis überlinsengroß, klar wässrig, schleimig, bald vertrocknend	bis linsengroß, Aufhellung bis zu einem Umkreis von 3 mm, sehr bald vertrocknend	bis überstecknadelkopfgroß, geringe Rötung	diffus getrübt, bald klar, mit krümligem Bodensatz	diffus getrübt, diffus gerübt, Burgunderfärbung	bis überstecknadelkopfgroß, grau	grau, bis stecknadelkopfgroß	auch unter 20°	4–5 Monate (Gelatine)

Unter den *Str. longus*-Stämmen fanden sich Unterschiede, da einige (unter mehr als 60 Stämmen 14), aus dem Halse und auch aus eiterigen Prozessen stammende, auf allen Nährböden größere, teilweise saftige Kolonien bildeten, die, wie aus der Tabelle hervorgeht, besonders auf Loeffler-Serum kaum von den *Str. mucosus*-Kolonien verschieden waren; sie hatten jedoch nie eine färbbare Kapsel (allerdings fand sich bei ihnen, wie bei allen Streptokokken, zuweilen eine gefärbte, schlauchartige, schmale Verbindung zwischen den einzelnen Kettengliedern oder sie lagen zuweilen in einer gefärbten Zoogloea, jedoch in schön gewundenen, untereinander verschlungenen Ketten von kleineren, stets runden Kokken); bei Uebertragung auf andere Nährböden ließen sie sich stets bald auch makroskopisch vom *Str. mucosus* unterscheiden.

*Str. erysipelatos* und *Str. viridans* stimmten morphologisch (es waren stets kleine runde Kokken in wechselnd langen Ketten bis zu weit über 100 Gliedern) und kulturell in vielen Punkten überein, wie aus der Tabelle ersichtlich ist. Ein Merkmal, durch das sie sich von den beiden anderen Arten unterschieden, war beim Ueberimpfen vom Blutagar auffällig, wobei sie sich in krümliger trockener, etwas gelblicher Masse abstreichen ließen (auch die seltenere Wachstumsform des *Str. erysipelatos*), während *Str. mucosus* und *Str. lanceolatus* als feuchter grauer Schleim an der Nadel leichter haftete.

Der Blutagar allein genügte nicht, um mit Sicherheit die einzelnen Streptokokkenarten zu trennen; die Ansicht Boxers, der den Diplokokken die Fähigkeit zuspricht, eine Eigelbfärbung des Blutagars herbeizurufen, während Streptokokken eine blutfarbstofflösende Wirkung haben sollen, konnte nicht bestätigt werden, da der *Str. viridans* gerade die für die Diplokokken reservierte Eigenschaft hatte. (Ich vermute, daß diese „Eigelbfärbung“ dasselbe ist, was Schottmüller in, nach meiner Erfahrung, nicht ganz zutreffender Art als „grüngrauen Belag“ beschreibt; es handelt sich dabei eben um eine Umwandlung des Blutfarbstoffes, wodurch dieser undurchsichtig grüngrau oder grüngelblich wird.)

Es ist zu betonen, daß es nicht möglich war, einen *Streptococcus* in den anderen überzuführen. Selbst die beiden Formen des *Str. erysipelatos* (cf. die Tabelle), von denen die häufiger gefundene durch zarteres, die andere seltenere durch üppigeres Wachstum ausgezeichnet war, behielten ihre Besonderheiten bei oder nahmen sie, wenn sie auf einem Nährboden einmal weniger augenfällig waren, bei weiterer Uebertragung wieder an, so daß der Eindruck erweckt wurde, als handelte es sich um 2 Varietäten des *Str. erysipelatos*, ebenso wie die Pneumokokken ihre längliche Gestalt immer wieder erkennen ließen. Wie die Virulenz der Pneumokokken mit dem Alter der Stämme abnahm, so bewirkte auch besonders die zweite Form des *Str. erysipelatos* in den ersten Generationen prompt innerhalb 40–100 Stunden den Tod der (mit  $\frac{1}{2}$  Oese 20-stündiger Loeffler-Kultur geimpften) Mäuse, während bei Verwendung derselben Stämme nach langer Fortzüchtung nach 5–9 Tagen der Tod herbeigeführt wurde, oder auch nur lokale Abscesse entstanden, aus denen der *Streptococcus* in Reinkultur gezüchtet wurde.

Dagegen gingen mit *Str. mucosus* geimpfte Mäuse stets ein, wobei noch berücksichtigt werden muß, daß in einer Oese dieser schleimigen Kulturen wohl kaum ebenso viele Keime vorhanden sind, wie in einer Oese der anderen nicht schleimigen Kulturen.

Schließlich seien noch einige Versuche erwähnt, die zur Kontrolle der Richtigkeit der Trennung verschiedener Streptokokkenarten gemacht wurden.

Auf dieselbe Platte (Blutagar, Lackmus-Laktose-Agar und Loeffler-Serum) wurden mehrere oder auch alle Arten gemischt, ausgesät und versucht, die Stämme wiederzuerkennen und wieder rein zu züchten. Es gelang bei Aussaat von *Str. mucosus* mit *Str. erysipelatos* leicht, beide Arten wieder zu züchten, jedoch fand sich bei Aussaat von etwa gleicher Menge beider Arten, daß der *Str. mucosus* hinter dem *Str. erysipelatos* an Zahl der gewachsenen Kolonien ganz erheblich zurückblieb. Dieses Ergebnis war vorausszusehen, da auch bei Reinaussaaten nie so viele *Mucosus*-Kolonien wuchsen, als nach der Menge des verwandten Materials zu erwarten gewesen wäre, eine Tatsache, die entweder für eine leichtmögliche Schädigung des *Str. mucosus* spricht, oder dafür, daß, wie erwähnt, in derselben Menge Kultur nicht so viele Keime enthalten sind, wie bei den anderen Arten, für welche letztere Ansicht wohl auch das mikroskopische Bild eines Ausstriches oder Klatschpräparates spricht.

Wurden alle 4 Arten auf eine Platte gesät, so war es nicht ganz leicht, sie voneinander wieder zu scheiden, es geht das ja auch aus einer Betrachtung der Tabelle hervor.

Wie bei Uebertragung von Kulturen, so schienen auch beim Ausstreichen tierischer Säfte nicht so viele Kolonien von *Str. mucosus* zu wachsen, als man nach der Zahl der Organismen im gefährten Ausstrichpräparat hätte annehmen müssen. Da auch aus den Organen von Versuchstieren nur verhältnismäßig wenige Kolonien aufgingen, so schien der Grund hierfür in der Eigentümlichkeit des *Str. mucosus* zu liegen und nicht auf einer Beeinträchtigung durch andere Bakterien zu beruhen. So wurde er nie allein im Halse gefunden, vielfach mit anderen Streptokokken zusammen und zuweilen sogar 3 oder alle 4 Arten aus einem Rachen gezüchtet. Schon Kurth erwähnt die Vorliebe der Streptokokken zur Vergesellschaftung miteinander.

Daß der *Str. mucosus* ebenso, wie es für die anderen Streptokokkenarten bekannt ist, als harmloser Schmarotzer im Rachen vorkommt, zeigen die Fälle von Halsentzündungen, bei denen ihm, der stets in nur geringer Zahl gefunden wurde, wohl kaum eine ätiologische Bedeutung beizumessen ist, und besonders der Fall XI, wo er im eigenen Rachen gefunden wurde, ebenso wie Bürger ihn in mehreren Fällen in der normalen Mundhöhle fand. Inwieweit er bei den beiden Fällen von Keuchhusten eine Rolle bei dem Krankheitsprozeß gespielt hat, ist natürlich nicht abzusehen. Der Fall II schien wenigstens bei den ersten Untersuchungen dafür zu sprechen, daß der chronische Katarrh von dem *Str. mucosus* unterhalten würde, die nach mehreren Monaten wiederum ausgeführte Untersuchung ließ jedoch berechtigte Zweifel an dieser Ansicht aufkommen. Daß er bei Lungenentzündungen eine Rolle spielt, geht aus den Untersuchungen Schottmüllers hervor, wenn er auch bei einer Reihe von Pneumonikersputa unsererseits nicht nachgewiesen werden konnte.

Bei Fall I scheint es jedoch klar zu sein, daß die Meningitis von dem *Str. mucosus* hervorgerufen worden war (bei mehreren anderen Meningitisfällen wurden *Str. erysipelatos*, *Str. lanceolatus* oder *Micrococcus Weichselbaum* gefunden). Ähnliche Fälle sind wiederholt beschrieben und besonders von Schottmüller das Vor-

kommen dieses *Streptococcus* auch bei epidemischer Meningitis unter Anführung der Arbeiten von Bonome und Panieński betont worden.

An die Fälle von Schottmüller, der wiederholt bei sporadischer Meningitis im Anschluß an Otitis den *Str. mucosus* fand, schließt sich unser Fall an. Leider ist der otitische Eiter nicht untersucht worden. Daß bei Ohreiterungen der genannte *Streptococcus* vorkommt, zeigt ein Fall von Heim. Bei anderen Erkrankungen wurde er ebenfalls gefunden, so bei Parametritis (Schottmüller), Darmerkrankungen (Lewkowicz, Hlava, Howard und Perkins) bei Sepsis (Le Roy des Barres u. Weinberg) und bei einer eine Pneumonie begleitenden geringen Eiterung am Finger (Tavel und Krumbein). Scharlachfälle kamen nicht zur Untersuchung. Wieweit die Streptokokken von Kurth, Klein, v. Besser und Hlava bei dem Scharlach als Erreger eine Rolle gespielt haben, läßt sich nur schwer beurteilen.

Herrn Prof. Fischer sage ich für die Anregung zu den Untersuchungen und die vielfache Unterstützung meinen ergebensten Dank.

#### Literatur.

- Babes, Centralbl. f. Bakt. Bd. VII. 1890. p. 233.  
 v. Besser, Zieglers Beitr. z. path. Anat. u. allg. Path. Bd. VI. 1889. p. 357.  
 Binaghi, Centralbl. f. Bakt. Bd. XXII. 1897. p. 273.  
 Bonome, Zieglers Beitr. z. path. Anat. u. allg. Path. Bd. VIII. 1890. p. 377.  
 Boxer, Centralbl. f. Bakt. Bd. XL. 1906. p. 591.  
 Bürger, Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXIX. 1905. p. 216.  
 Fränkel, E., Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 12. p. 548; No. 39. p. 1868.  
 Heim, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. L. 1905. p. 109.  
 Hiss, Centralbl. f. Bakt. Ref. Bd. XXXI. 1902. p. 302.  
 Hlava, Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXII. 1902. p. 263.  
 Howard u. Perkins, cf. Bürger.  
 Klein, (Ref.) Centralbl. f. Bakt. Bd. XXV. 1899. p. 776.  
 Lewkowicz (Autoreferat), Centralbl. f. Bakt. Bd. XXIX. 1901. p. 635.  
 v. Lingelsheim, Handb. d. pathog. Mikroorg. Bd. III. VII. p. 303. (Habilitationsschrift.) Marburg 1899.  
 Longcope, (Ref.) Baumgartens Jahresber. 1902. p. 129.  
 Neumann, Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXVII. 1904. p. 481.  
 Nobécourt et de Vicariis, Arch. gén. de méd. T. LXXXII. 1905. No. 51.  
 Ortman, Arch. f. exper. Path. u. Pharm. Bd. XXIV. 1888. p. 291.  
 Pasquale, Centralbl. f. Bakt. Ref. Bd. XXXVII. 1906. p. 4.  
 Richardson, Centralbl. f. Bakt. XXXI. 1902. p. 241.  
 Le Roy des Barres et Weinberg, (Ref.) Baumgartens Jahresber. 1900. p. 21.  
 Schottmüller, Münch. med. Wochenschr. 1903. No. 20/21. p. 849; 1905. No. 30. p. 1425; No. 34—36. p. 1617.  
 Seitz, Centralbl. f. Bakt. Bd. XX. 1896. p. 854.  
 Tavel et Krumbein, Travail de l'Inst. bact. d. l'Univ. Berne. 1895.

*Nachdruck verboten.*

# Ueber Streptokokkenvaccine und deren Verwendung bei der Druse der Pferde und dem Scharlach des Menschen.

Von **G. Gabritschewsky,**

Direktor des bakteriologischen Instituts a. d. kaiserl. Universität zu Moskau.

Mit 1 Kurve.

Beim Studium der Streptokokkenvaccine richtete ich meine besondere Aufmerksamkeit auf zwei Formen der Streptokokkeninfektion: die Druse der Pferde und die Scarlatina des Menschen. Ich ging von der Voraussetzung aus, daß, wenn es gelingen würde, den Nutzen der Vaccination bei der Pferdedruse (*Adenitis equorum* seu *Coryza contagiosa equorum*), einer unstrittig durch einen *Streptococcus* verursachten Krankheit, praktisch nachzuweisen, dieser Umstand auch von Bedeutung für den Scharlach sein müßte, da ja alle Autoren dem *Streptococcus* die wesentliche Rolle des Symptomenkomplexes bei dieser Krankheit zuschreiben, und einige sogar denselben für den spezifischen Erreger des Scharlachfiebers ansehen.

Die Druse der Pferde erinnert durch viele Symptome an die Scarlatina des Menschen. Nach der lokalen Affektion der Nasen- und Rachenschleimhaut, an welche sich eine anfangs seröse und später seröseiterige oder eiterige Absonderung anschließt, schwellen tatsächlich die Submaxillar- und die anderen Lymphdrüsen des Kopfes und des Halses an. Diesen Prozeß begleiten erschwertes Atmen und Schlucken, zuweilen Erbrechen und stets Fieber, dessen Temperaturkurve nicht selten an die Temperaturkurve des Scharlachs erinnert; auch endet er entweder durch allmähliches Abklingen der Polyadenitis unter lytischem Temperaturabfall, oder aber durch ein Weiterschreiten der Infektion auf die inneren Organe — Affektion der Lungen, Nieren, Gelenke, des Endocards u. s. w. — unter dem Bilde der Septikämie mit Exitus in 4—5 Proz. der Fälle. Es sei darauf hingewiesen, daß bei der Druse der Pferde in einigen Fällen auch eine Hautaffektion in Form eines Exanthems mit Schälung der Epidermis, der Desquamation bei dem Scharlach ähnlich, auftritt. Der Scharlachstreptococcus erzeugt bei Pferden keine so schwere Infektion wie derjenige der Pferdedruse, was uns zum Schlusse berechtigt, daß die pathogenen Eigenschaften, wie weit die Streptokokken auf verschiedenen Organismen zu parasitieren sich anpassen, verschieden sind, im wesentlichen jedoch die Druse der Pferde als eine Scarlatina der Tiere oder umgekehrt auffassen können. Das Scharlachfieber als auch die Druse der Pferde befällt hauptsächlich das jugendliche Alter und das einmalige Ueberstehen der Krankheit gewährt eine Immunität vor einem neuen Befallenwerden<sup>1)</sup>; diese Immunität ist jedoch bei der Druse der Perde nicht so anhaltend und zuverlässig wie beim Scharlach.

Bei solch einer Analogie in Bezug auf die Aetiologie und das klinische Bild der Druse der Pferde und der Scarlatina des Menschen erhielten in meinen Augen die Versuche mit Schutzimpfungen gegen die Druse der Pferde eine doppelte Bedeutung. Einerseits war die Möglichkeit gegeben, durch Präventivimpfungen eine der verbreitetsten

1) Hutyra und Marek, Pathologie und Therapie der Haustiere. 1905.



Pferdekrankheiten zu bekämpfen, andererseits lag es nahe, eine experimentelle Basis für die Anwendung der Streptokokkenvaccinen bei dem Scharlach des Menschen zu finden.

### I. Vaccine der Streptokokkendruse der Pferde.

Die von mir von den 7 ersten Fällen von der Druse der Pferde unmittelbar von der Nasenschleimhaut oder aus den vereiterten Lymphdrüsen gezüchteten Streptokokkenkulturen boten 2 Typen dar. Der erste Typus (Kulturen No. 1, 3 und 5) gab auf gewöhnlicher Fleischbouillon eine Kultur ohne Trübung der Bouillon und lange Ketten bei der mikroskopischen Untersuchung. Auf Pferdebouillon bei Zusatz von 1—3 Proz. Traubenzucker erhält man ein viel üppigeres Wachstum in kurzen Ketten, wobei die Kultur ziemlich fest den Wänden des Kölbchens anhaftet, so daß man durch bloßes Schütteln den Belag vom Glase nicht abspülen kann und man denselben entweder mit der Platinöse oder mit einem Glasstabe abnehmen muß.

Der zweite Typus des Drusenstreptococcus (Kulturen No. 2, 4, 6 und 7) charakterisiert sich dadurch, daß er auf Fleischbouillon Ketten von mittlerer oder unbedeutender Länge und leichtes Trübbewerden der Bouillon (in den ersten 24 Stunden) gibt. Auf Fleisch- und Pferdebouillon bei Zusatz von Traubenzucker erhält man üppigen Wuchs, die Kultur jedoch haftet den Wänden des Kölbchens nicht an. Außerdem ergibt dieser Typus auf einfachem Agar mit Pferdeserum besonders in den ersten Generationen im Vergleich zu den Streptokokken des ersten Typus saftige schleimige Kolonien. Alle sieben gezüchteten Streptokokkenkulturen besaßen die Eigenschaft, saure Reaktion in der anfänglich alkalischen, aus Ochsen- oder Pferdefleisch mit Traubenzuckerzusatz bereiteten Bouillon hervorzurufen. Nahm man aber Bouillon ohne Zuckerzusatz, jedoch unter Hinzufügung von Pferdeserum, so blieb die alkalische Reaktion der Fleischbouillon in der Kultur erhalten, wogegen in der Bouillon aus Pferdefleisch saure Reaktion sich einstellte und, was besonders beachtenswert ist, Opaleszenz auftrat, wahrscheinlich infolge teilweiser Ausscheidung der Serumalbuminate. Beim Vergleich zwischen dem Wachstum des Drusenstreptococcus und desjenigen des Scharlachs ergab es sich, daß der Scharlachstreptococcus auf Pferdebouillon mit Pferdeserum, wenigstens bei geringem Zusatz des letzteren (bis zu 1—2 Proz.), weder saure Reaktion, noch Opaleszenz (Trübung chemischen Charakters) erzeugt. Diese Differenz zwischen dem Scharlach- und dem Drusenstreptococcus war besonders stark in frisch hergestellten Kulturen, einige Monate später jedoch in diesen selben Kulturen weniger deutlich ausgesprochen.

Alle gezüchteten Kulturen waren weißen Mäusen gegenüber virulent: dieselben gingen bei subkutaner Injektion von 0,01—0,1 ccm in 2, 3 bis 4 Tagen, bei geringeren Quantitäten (bis 0,001 ccm) in 1—2 Wochen ein oder blieben am Leben, jedoch mit Hautnekrose an der Injektionsstelle.

Mit Rücksicht darauf, daß ich beim Infizieren der Pferde durch die Nasenschleimhaut beim Einreiben vermittelst eines Wattetampons mit einer Mischung aller Streptokokken enthaltenden Bouillonkultur bei Pferden eine experimentelle Druse mit Vermehrung von Streptokokken des zweiten Typus erhielt, läßt sich vermuten, daß eben dieser Typus, nach der Beschreibung der Kultur von Sand und Jensen am meisten nahestehend, für Pferde am virulentesten ist. Die gezüchteten Pferde-

streptokokken ließ ich nicht durch Laboratoriumstiere passieren, sondern war bemüht, den ursprünglichen Charakter ihrer Virulenz durch Züchtung derselben auf Fleischbouillon mit Pferdeserumzusatz zu erhalten; auf Pferde- oder Zuckerbouillon ergaben die Streptokokken zwar eine reichliche Kultur, verloren aber infolge des Auftretens der sauern Reaktion ihre ursprüngliche Virulenz und hüllten im weiteren vollständig die Fähigkeit ein, nicht nur in Zucker-, sondern auch in gewöhnlicher Bouillon Kulturen zu geben. Wenn frühere Untersucher darauf hinweisen, daß die Pferdestreptokokken bei Züchtungsversuchen schnell zu Grunde gehen, so scheint mir dieser Hinweis bei Beobachtung der soeben angeführten Vorsichtsmaßregeln nicht ganz zutreffend. Bei Ueberimpfungen einmal wöchentlich gelang es mir, die Kulturen länger als ein Jahr zu erhalten.

Die ersten Vaccinationsversuche an weißen Mäusen mit durch Erwärmen bis 60° C oder durch Zusatz von 0,5 Proz. Karbolsäure abgetöteten Streptokokken verliefen vollständig negativ. Alle 22 Mäuse, denen ich in 3 Serien Vaccinationen das erste Mal à 0,1—0,3 ccm und nach einer Woche das zweite Mal à 0,3—0,5 ccm injizierte, gingen ein, als ich ihnen eine Woche nach der letzten Inokulation 0,01 einer lebenden Kultur einverleibte. 8 Kaninchen — zwei Versuchsreihen — ergaben ein befriedigenderes Resultat. Die intravenöse Injektion einer bei 60° C abgetöteten Bouillonkultur à 0,5—1,0 ccm als erste Vaccination und 1,0—2,0 ccm als zweite Impfung, konnte in 4 von 6 Fällen die Versuchstiere nach Einverleibung von 1,0—2,0 ccm derselben lebenden Streptokokkenkultur vor dem Eingehen bewahren.

Selbst wenn ich vollständig negative Resultate an Kaninchen erzielt hätte, würde die Bedeutung der Streptokokkenvaccine bei der Druse durch diese Versuche nicht geschmälert werden, da bei Pferden in Bezug auf eine natürliche Infektion die Vaccination immerhin zu praktischen Resultate führen könnte. Deshalb ging ich direkt zu Versuchen an Füllen über.

Zum Erhalten der Vaccine benutzte ich Bouillonkulturen, um aber eine möglichst große bakterielle Masse in einem kleinen Volumen zu erzielen, wurde eine ganze Reihe von Untersuchungen nach dieser Richtung hin angestellt. Als schnelles objektives Kriterium der Menge der bakteriellen Masse benutzte ich Röhren von 3 ccm Volumen mit engerem à 0,01 ccm graduierten Endteil. 2 ccm der zu untersuchenden Bouillonkultur wurden in solch einem Röhren zentrifugiert und der erhaltene Niederschlag an den Teilstrichen abgelesen, wobei Tausendstel eines Kubikzentimeters (im Volumen) nur annähernd bestimmt wurden. Wir benutzten eine elektrische Zentrifuge mit 1000 Rotationen in der Minute; die Menge des Niederschlages wurde nach 10 Minuten langer Arbeit der Zentrifuge bestimmt<sup>1)</sup>.

In nachfolgender Tabelle (p. 722) sind die Resultate der vergleichenden Bestimmung der Streptokokkenmenge in verschiedenen Bouillonarten wiedergegeben. Die Bouillonkulturen wurden bei 37,0° C im Laufe von 2 × 24 Stunden gezüchtet.

Aus dieser Tabelle erhellt, daß das Wachstum am besten in Bouillon mit Zusatz von 0,3 Proz. Traubenzucker und 3 Proz. Pepton vor sich geht.

1) In unserem Institut benutzt man noch eine von Dr. I. A. Zelikoff vorgeschlagene optometrische Methode zur Bestimmung der Menge der bakteriellen Masse. Die nähere Beschreibung dieses Verfahrens erscheint demnächst in der Fachpresse.

Medium	No. 1	No. 2	No. 5	No. 6
I. Bouillon aus Pferdefleisch bei 150° C mit 1 Proz. Pepton Witte	0,014	0,01	0,015	0,01
II. Bouillon aus Pferdefleisch bei 120° C mit 3 Proz. Zucker	0,01	0,005	0,01	0,008
III. Bouillon aus Pferdefleisch bei 120° C mit 3 Proz. Pepton — 0,3 Proz. Zucker	0,02	0,017	0,02	0,012
IV. Bouillon aus Pferdefleisch bei 120° C mit 1 Proz. Pepton — 3 Proz. Zucker	0,012	0,01	0,015	0,01
V. Bouillon aus Ochsenfleisch bei 120° C mit 3 Proz. Pepton — 3 Proz. Zucker	0,012	0,016		
VI. Bouillon aus Ochsenfleisch bei 120° C mit 1 Proz. Pepton — 3 Proz. Zucker	0,007	0,009		

Der Zusatz von Pferdeserum zu irgend einer dieser Bouillonarten ergibt ein noch etwas besseres Wachstum. Da schon nach Ablauf von 24 Stunden die alkalische Bouillon infolge von Milchsäurebildung sauer wird, was das weitere Wachstum der Streptokokken hindert, so fügte ich nach je 24 Stunden 20 Proz. Soda bis zur schwachen alkalischen Reaktion hinzu. Somit verbrauchte man auf jeden Kolben von 150 ccm in  $3 \times 24$  Stunden je 6–9 ccm Alkali, wogegen in den Kontrollkolben, in welche man nur einmal nach Ablauf von  $3 \times 24$  Stunden Alkali hinzufügte, das Wachstum zwei- bis dreimal weniger üppig war. Durch tägliches Neutralisieren der Bouillon erzielte ich eine äußerst üppige Streptokokkenernte (bis 0,025 ccm auf 2,0 ccm der Kultur), da dies jedoch die Herstellung der Vaccine komplizierte, so verblieb ich beim Gewinnen des Impfmateri als bei Pferdebouillon mit Zusatz von 1 Proz. Zucker und 3 Proz. Pepton, das Wachstum ging  $2 \times 24$  Stunden im Brutschrank vor sich und wurde die Kultur einmal beim Entnehmen aus dem Thermostaten neutralisiert.

Die Kultur von allen Streptokokken wurde nach Zusatz bis zu 0,5 Proz. Phenol in Cylinder gegossen, abgesetzt und der  $\frac{1}{10}$  des ursprünglichen Bouillonquantums enthaltende Niederschlag wurde als Drusevaccin benutzt, dessen Sterilsein vor dem Gebrauch geprüft wurde. Solch ein Vaccin enthält in jedem Kubikcentimeter 0,1 ccm Streptokokkenmasse als Niederschlag beim Zentrifugieren oder 0,02 an Gewicht als Trockensubstanz der Streptokokkenkultur. Es wurden auch Impfversuche mit Kulturen, die ohne Phenolzusatz nur bei einer Temperatur von 50–60° C erhitzt, angestellt, es ergab sich jedoch, daß bei nicht gleichmäßigem Erwärmen großer Bouillonquanta einzelne Streptokokken am Leben bleiben und ihre Virulenz bewahren, was mich veranlaßte, mich der chemischen Sterilisation mit Phenol zu bedienen.

Heutzutage sind noch andere Methoden zur Vaccinherstellung in Vorschlag gebracht (durch Autolyse, durch Ausscheiden der freien Rezeptoren, durch Bearbeitung mit spezifischen Fixatoren u. s. w.), da ich aber ein möglichst einfaches Verfahren und eine billige Herstellungsweise des Präparates verfolgte, blieb ich bei der soeben beschriebenen Vaccinebereitung.

(Schluß folgt.)

*Nachdruck verboten.*

# Der Bakteriengehalt der Nase bei den Infektionskrankheiten, mit besonderer Berücksichtigung der Meningitis cerebrospinalis epidemica.

[Aus der bakteriologischen Abteilung des Operationskursus für Militärärzte (Oberstabsarzt Prof. Dr. Dieudonné) und der Ohrenstation des Garnisonlazarets München (Stabsarzt Dr. Hasslauer).]

Von Stabsarzt Dr. **Hasslauer**, München.

(Fortsetzung.)

## 11) Meningitis cerebrospinalis epidem. (8 Fälle.)

In 7 Fällen war die Nasenschleimhaut mit katarrhalischer Entzündung an der Hauptkrankheit beteiligt, in einem Falle sah sie normal aus.

Der erste zugewogene Fall von deutlicher Meningitis cerebrospinalis epidemica stammte vom 2. Infanterieregiment. Es wurden bei wiederholten Untersuchungen im Nasensekret, im Blut, im Eiter eines Abscesses an der Hand, im hämorrhagischen Harn, bei der Sektion im Nierenabsceß mikroskopisch und kulturell typische Pneumokokken mit Kapseln festgestellt. Die Nasenschleimhaut befand sich in stark entzündetem Zustand und enthielt mikroskopisch und kulturell typische Pneumokokken, auf Serumagar wie auf Glycerinagar. Auf ersterem Boden wuchsen außerdem einzelne Kolonien von *Staphyl. citreus*. Ob die Infektion von der Nase ausging, läßt sich nicht beweisen, auf alle Fälle hat der *Pneumococcus* eine typische Meningitis veranlaßt mit einer Pneumokokkensepsis, ein Beweis, daß bei gehäuftem Vorkommen von Genickstarrefällen diese nicht alle durch den *Meningococcus* hervorgerufen werden. Nach Dieudonné sollte man solche vereinzelt Fälle nicht als Genickstarre, sondern als Meningitis, in diesem Falle als Pneumokokkenmeningitis bezeichnen.

Fast gleichzeitig kam nun ein Mann des 1. Trainbataillons mit Meningitis cerebrospinalis epidemica in Lazarettbehandlung, nach 3 Tagen bereits 1 weiterer Mann, von da ab wurde jeder Mann des Trainbataillons, der mit Fieber zuzug, dem Lazarett überwiesen, wo eine eigene Beobachtungsstation eingerichtet wurde. Im ganzen erkrankten 6 Mann an Meningitis cerebrosp. epid. Bei 4 Mann wurden in der Nase mikroskopisch und kulturell der *Micrococcus intracellularis meningitidis* festgestellt, bei den beiden anderen fanden sich mikroskopisch Diplokokken, kulturell Diplokokken, Staphylokokken und Pseudodiphtheriebacillen bzw. mikroskopisch Kapseldiplokokken, kulturell Diplokokken, Diplostreptokokken.

Zu dieser Gruppe gehört noch ein Fall von sporadischer Meningitis cerebrosp. epid., der im Sommer 1905 in Behandlung stand und im Nasensekret große, semmelförmige Diplokokken und Streptokokken aufwies.

An den 5 genesenen Fällen wurde vor der Entlassung eine zweite Untersuchung des Nasensekrets vorgenommen, wobei die akut entzündlichen Erscheinungen vom Beginn der Erkrankung teils ganz verschwunden oder nur in unbedeutendem Grade noch vorhanden waren. 25 Fälle waren mikroskopisch und kulturell steril, in einem Fall fanden sich mikroskopisch Diplokokken, kulturell steril. In den beiden anderen

Fällen aber fanden sich mikroskopisch Diplokokken, während sich kulturell Streptokokken und Staphylokokken zeigten. Also auch hier wieder nach Ablauf der Erkrankung das Vortreten von Streptokokken, die im akuten Stadium nicht festzustellen waren.

Auf die Beobachtungsstation aufgenommen wurden 31 Mann mit Fieber, Kopfschmerzen oder katarrhalischer Erkrankung der oberen Luftwege. Nur bei 4 Mann befanden sich die oberen Luftwege im gesunden Zustande, bei 13 Mann fand sich akuter Nasenkatarrh, bei 14 Mann neben dem Nasenkatarrh eine akute Erkrankung des Nasenrachenraumes und des Rachens. Bei 2 Mann fand sich außerdem Herpeseruption, 1mal Herpes labialis, bei dem anderen ein starker Herpes des Naseneinganges; Nasenflügel außen und innen, sowie der ganze Naseneingang bis an die Nasenmuscheln waren von einer Anzahl kleinster Bläschen übersät. Bei 5 Mann ergab die bakteriologische Untersuchung das Vorhandensein des *Micrococcus intracellularis* im Nasenrachensekret mikroskopisch und kulturell, darunter 4mal bei Katarrh der oberen Luftwege, 1mal bei gesunder Nase und Nasenrachenraum. Dieser Mann war wegen Fieber, Kopfschmerzen und Erbrechen dem Lazarett überwiesen worden. Der *Micrococcus intracellularis* war bei der nach Ablauf der akuten Erscheinungen vorgenommenen zweiten Untersuchung verschwunden, mikroskopisch zeigte sich jetzt 3mal der *Diplococcus*, 2mal war der Ausstrich steril, kulturell trat 3mal an Stelle des *Micrococcus intracellularis* der *Streptococcus* teilweise in Reinkultur, teils in Gesellschaft von Diplokokken, Diplostreptokokken und Staphylokokken, 1mal der *Staphylococcus* und 1mal war die Kultur steril.

In 2 von diesen 5 Fällen wurde ein drittes Mal untersucht, 1mal mikroskopisch und kulturell steril, 1mal mikroskopisch Diplokokken, kulturell Staphylokokken.

In den übrigen 26 Fällen fanden sich vornehmlich Diplokokken, teils allein, teils in Gesellschaft von Streptokokken, Staphylokokken oder nicht näher festgestellten Stäbchen, weit weniger vertreten ist der *Staphylococcus*. In einem Falle fanden sich mikroskopisch massenhaft Gram-negative Diplokokken und Tetraden, die sich kulturell als der *Micrococcus catarrhalis* R. Pfeiffer entpuppten; in einem anderen Falle wurde eine Streptokokkenart gezüchtet, die nach ihrer Lagerung in Diplokokken- oder Kettenform, durch das regelmäßige Vorhandensein einer Kapsel, auch bei längerer Fortzüchtung auf Serumagar und die schleimige Beschaffenheit der Kultur als der Schottmüllersche *Streptococcus mucosus* festgestellt wurde. In einem weiteren Falle wuchsen influenzaähnliche Stäbchen und in einem vierten Falle fand sich mikroskopisch und kulturell der Fränkelsche *Pneumococcus*. In 14 Fällen wurde nachuntersucht und waren die bei der ersten Untersuchung gefundenen Mikroorganismen meist ganz verschwunden und die Platten steril. Bemerkenswert erscheint mir auch hier wieder, daß 3mal die Streptokokken in den Vordergrund getreten waren, während sie bei der ersten Untersuchung, d. h. im akuten Stadium des Katarrhs, von Diplokokken überwuchert worden waren.

Keiner von den 5 Meningokokkenträgern in dieser Gruppe erkrankte später an Meningitis.

Als aus Mannschaftszimmer 136 der zweite Fall von epidemischer Genickstarre zuing, wurden sämtliche in diesem Zimmer untergebrachten Leute, 38 Mann, einer bakteriologischen Untersuchung des Nasensekrets unterworfen.

4 Leute hatten normal aussehende obere Luftwege, trotzdem fand sich bei einem Mann mikroskopisch und kulturell der *Micrococcus intracellularis*. Bei 4 Leuten bestand akuter Nasenkatarrh, bei 12 Leuten gleichzeitig Entzündung des Nasenrachenraumes, bei 7 Leuten nur Katarrh des Nasenrachenraumes, bei 4 Leuten eine einfache Angina, bei 5 weiteren gleichzeitig mit Katarrh des Nasenrachenraumes und der Nase, bei 2 Leuten nur eine einfache Pharyngitis.

Bei 3 weiteren Leuten, im ganzen also 4 dieser Gruppe, wurde mikroskopisch und kulturell der *Micrococcus intracellularis* festgestellt. Diese Leute wurden dem Lazarett überwiesen. Von den übrigen hatte sich keiner krank gemeldet und erkrankte auch in der Folge keiner, mit Ausnahme von 2 Mann, die wegen akutem Bronchialkatarrh bzw. Kehlkopfkatarrh in Lazarettbehandlung genommen wurden. Bei 7 Mann wurden mikroskopisch intracelluläre Diplokokken mit Tetradenbildung festgestellt und wäre nach dem mikroskopischen Bilde allein sicher die Diagnose *Meningococcus* gestellt worden, kulturell konnte diese Diagnose jedoch nicht bestätigt werden, in einem Falle handelte es sich um den *Micrococcus catarrhalis* R. Pfeiffer.

In den übrigen Fällen fand sich fast durchweg der *Diplococcus* mikroskopisch und kulturell, sehr oft auch in Reinkultur, dann auch in Gesellschaft von Streptokokken und dem *Bact. pneum.* Friedländer und 1mal mit dem *Pseudodiphtheriebacillus* zusammen. In 3 Nasensekreten wurden typische Pneumokokken in großen Mengen gefunden. Nicht einmal war der *Diplococcus* kulturell mit dem *Staphylococcus* vergesellschaftet, wohl aber zeigte sich dieser kulturell in einigen Fällen, wo mikroskopisch der *Diplococcus* festgestellt war. Hier findet sich also die gleiche Beobachtung, wie ich sie bei meinen bakteriologischen Untersuchungen der akuten Mittelohreiterungen in zahlreichen Fällen feststellte, und wird die Annahme berechtigt sein, daß der *Staphylococcus* den *Diplococcus* überwuchert und verdrängt hat. Auffallend ist auch hier wieder das Vorherrschen der Diplokokken und Streptokokken.

Bei den 4 Meningokokkenträgern ergab die zweite Untersuchung nur in einem Falle wieder den *Meningococcus*, in den anderen 3 Fällen war dieser bereits durch Diplokokken bzw. Friedländer verdrängt, bei der dritten Untersuchung war der *Meningococcus* ganz verschwunden. In dem ersten Falle von *Micrococcus catarrh.* war dieser bei der dritten Untersuchung durch Staphylokokken verdrängt worden. Steril erwies sich die Nase und der Nasenrachenraum nur in 3 Fällen, wovon 2 nur eine leichte Pharyngitis, der andere eine Entzündung des Nasenrachenraumes aufwies.

Des weiteren gehören zu dieser Gruppe noch 20 Mann, die mit den Meningitiskranken der anderen Zimmer in Berührung gestanden hatten, darunter die 6 Krankenwärter der Meningitisstation und ein Arzt. 10 davon zeigten normal aussehende obere Luftwege, 9 hatten einen akuten Nasenkatarrh, 1 gleichzeitig mit Entzündung des Nasenrachenraumes. Die katarrhalischen Erkrankungen sind in dieser Untersuchungsreihe sehr geringgradig, dem entspricht auch das bakteriologische Resultat. Nicht nur daß sehr geringes Wachstum auf den angegangenen Platten sich zeigte, waren 4 Fälle mikroskopisch und kulturell steril, 5 Fälle zeigten mikroskopisch Diplokokken, die Platten waren aber steril, und 6 Fälle waren mikroskopisch steril, auf den Platten aber stellte sich geringes Wachstum von hauptsächlich Staphylokokken ein, in einzelnen

Fällen von Streptokokken bzw. Diplokokken. Nur in 5 Fällen zeigte sich mikroskopisch und kulturell Wachstum und auch hier herrscht der *Staphylococcus* vor, nur vereinzelt findet sich der *Streptococcus* und *Diplococcus*.

Um nun zu sehen, ob der *Meningococcus* auch bei Gesunden vorkommt, die mit Meningitiskranken nicht in Berührung gekommen waren, wurde das Nasensekret von 20 Leuten untersucht, von einem Truppenteil, bei dem keine Erkrankungen an Genickstarre vorgekommen waren und dessen Kasernement von dem befallenen Truppenteil örtlich vollkommen getrennt ist.

8 Leute zeigten gesunde Nasenschleimhäute, während die übrigen 12 geringgradige Katarrhe der oberen Luftwege aufwiesen. In 2 Fällen fanden sich mikroskopisch intracelluläre, Gram-negative Diplokokken und Tetrakokken in großer Menge, die auf Grund des mikroskopischen Bildes sicher als Meningokokken bezeichnet worden wären, aber die Kultur stellte sie als *Micrococcus catarrhalis* R. Pfeiffer fest. Meningokokken wurden in keinem Falle gefunden. In weitaus der Mehrzahl wurden nur Staphylokokken gezüchtet, in 2 Fällen Diplokokken, in einem Falle Streptokokken, in 2 Fällen Stäbchen, 1mal war der *Staphylococcus* vergesellschaftet mit Pseudodiphtheriebacillen und endlich 1mal war die Kultur steril. 9mal war der mikroskopische Ausstrich steril, aber kulturell wurde Wachstum erzielt, das fast durchweg ein sehr spärliches war.

Es handelte sich also um eine kleine Genickstarreepidemie von 7 Fällen und einen sporadischen Fall. 1 Mann der Epidemie hatte keine epidemische Genickstarre, sondern eine sogenannte Pneumokokkenmeningitis, während in den übrigen Fällen es sich um die Meningitis cerebrospinalis epidemica handelte. 4 von den 6 Epidemiefällen wiesen im Nasenschleim mikroskopisch und kulturell den *Micrococcus intracellularis meningitidis* auf, die anderen 2 Fälle nur Diplokokken. Von 89 anderweitig Erkrankten und Gesunden, die mit den Meningitiskranken in Berührung gekommen waren, wurden 9 Mann als Kokkenträger festgestellt und bis zum Verschwinden der Meningokokken aus Nase und Rachen im Lazarett zurückbehalten.

Bei 20 Gesunden, die mit den Meningitiskranken in keinerlei Berührung gekommen waren, wurde nicht ein einziger Kokkenträger festgestellt.

Die zahlreichen bakteriologischen Untersuchungen bei Genickstarreepidemien in den letzten Jahren haben als fast konstanten Befund bei Meningitis cerebrospinalis epidemica und ihren Komplikationen den *Micrococcus intracellularis*, kurz *Meningococcus* genannt, ergeben. Derselbe wurde bei Entzündungen der Nase und ihrer Nebenhöhlen, des Mittelohres, des Rippenfelles, des Herzbeutels, der Herzinnenhaut, der Nieren, Gelenke, bei Ophthalmie und Tonsillitis und auch in Hautabscessen gefunden. Zuerst hat ihn Weichselbaum festgestellt, genauer studiert hat ihn dann Jaeger. Ob aber der *Meningococcus* als der spezifische Erreger der Genickstarre angesehen werden muß, wird trotz der zahlreichen positiven Befunde doch noch von einigen Autoren, wenn auch nicht angezweifelt, so doch nicht als einwandfrei erwiesen erachtet.

So ist er nach Albrecht und Ghon der Erreger einer besonderen Form der Meningitis, deren Aetiologie keine einheitliche ist. Nach Meyer ist wohl der *Meningococcus* der häufigste Erreger der Ge-

nickstarre, doch ist feststehend, daß auch der *Pneumococcus* Epidemien veranlaßt, weshalb die Italiener eine Pneumokokken- und eine Meningokokkenform aufstellten. Daß selbst zu Zeiten einer Genickstarrepidemie einzelne Fälle von Meningitis vorkommen können, die nicht vom *Meningococcus* hervorgerufen sind, beweist unser erster Fall von Pneumokokkenmeningitis (Dieudonné).

Auch der Schottmüllersche *Streptococcus mucosus* wird in einigen Epidemien als der Erreger der Genickstarre angesehen. Bonome sah eine Epidemie, deren Erreger er *Streptococcus* der Meningitis cerebrospinalis epidemica nennt und der weder mit dem *Diplococcus lanceolatus* noch mit einer anderen Streptokokkenart identisch sei. Ebenso beschreibt Paniński eine Genickstarrepidemie, hervorgerufen von Pneumokokken in langen Ketten. Diese beiden Epidemien erklärt nun Schottmüller als von seinem *Streptococcus mucosus* erzeugt, weil der *Diplococcus* so lange Ketten gar nicht bilde und auch nicht die Fähigkeit habe, Genickstarrepidemien zu erzeugen. Die Erwähnung des Schottmüllerschen *Streptococcus mucosus* erscheint mir deshalb bemerkenswert, weil bei meinen Kontrolluntersuchungen in der Nase eines nicht an Meningitis Erkrankten, aber auf der Meningitisstation zur Beobachtung befindlichen Mannes der *Streptococcus mucosus* festgestellt wurde.

Bei den meisten Epidemien jedoch findet sich fast als konstanter Befund der *Meningococcus*, der mit Rücksicht auf seine charakteristische Form, seine eigentümliche Anordnung in der Diplokokken- und Tetradenform, seiner meist konstanten Lagerung in den Zellen, seiner Pathogenität in bestimmter Richtung ein ganz eigenartiger Mikroorganismus ist, dessen ursächliche Beziehung zur epidemischen Genickstarre nach Kraus feststeht. Wohl vermöge auch der *Pneumococcus* Meningitis hervorzurufen, doch rufe der *Microc. intracell. men.* allein die epidemische Genickstarre sensu strictiori hervor.

Um einen Mikroorganismus als spezifische Ursache einer Infektionskrankheit anzusehen, darf er nur bei an der betreffenden Krankheit leidenden Menschen und deren Umgebung angetroffen werden. Einen wesentlichen Fortschritt in dieser Frage brachten die zahlreichen Untersuchungen der letzten Epidemien. Fast allgemein nahm man die Nase und den Rachen als die Eintrittspforte der Krankheitserreger an. Tatsächlich wurde nun von einer Reihe von Untersuchern auf der Nasenschleimhaut ein intracellulärer *Diplococcus* festgestellt, der mikroskopisch nicht vom *Meningococcus* zu unterscheiden ist. Diese meningokokkenähnlichen Diplokokken fanden sich jedoch nicht nur im Nasenschleim Genickstarrekranker, sondern auch bei nicht an Genickstarre Erkrankten mit katarrhalischen Affektionen der Nase und des Rachens, sowie in den tieferen Luftwegen, ja sogar bei Gesunden aus der Umgebung Meningitiskranker. Diese wurden nun alle als Kokkenträger erklärt und isoliert, so besonders von Jaeger, der die mikroskopische Untersuchung des Nasenschleims bei allen Leuten aus der Umgebung Meningitiskranker empfiehlt. Bald zeigte sich, daß diese Methode nicht beweiskräftig ist, weil auch bei Leuten, die mit Genickstarrekranken nie in Berührung gekommen waren und bei den verschiedensten Nasenaffektionen intracelluläre Diplokokken gefunden wurden. Die Träger dieser Diplokokken wurden sehr zu unrecht als Meningokokkenträger und als solche für die Weiterverbreitung der Genickstarre angesehen.

Ghon, Pfeiffer und Sederl fanden im Respirationstraktus



Kokkenformen, die derselben engeren Gruppe wie der *Meningococcus* zugehörten, und auch kulturell nur durch ganz exakte Untersuchungen sich unterscheiden lassen; durch die Kaffeebohnenform und die rasche Bildung von Degenerationsformen, durch sein gramnegatives Verhalten steht er dem *Gonococcus* Neisser am nächsten, zeigte aber mit diesem nur ein morphologisch gleiches Verhalten, ist aber kulturell und biologisch ganz verschieden. Noch näher steht er dem *Meningococcus* Weichselbaum, denn wie dieser zeigt er eine Lagerung zu zweien und viere, niemals in Kettenform, meist intracellulär, wächst aerob, zeigt denselben Wachstumstypus und ebenso geringe Pathogenität.

Sie fanden ihn als selbständigen Erreger von Bronchopneumonien und fieberhaften Bronchitiden, sowie überall in den oberen Luftwegen, auch bei Mischinfektionen in Gesellschaft des *Diplococcus pneumoniae* und des Influenzabacillus, seine Anwesenheit hat Einfluß auf das Krankheitsbild. Er ist ein noch wenig bekannter Mikroorganismus, ist also kein regelmäßiger Bewohner der oberen Luftwege. Diesen Coccus nannten sie nach dem Entdecker *Micrococcus catarrhalis* R. Pfeiffer, sie erklären ihn als eine eigne, mit dem *Microc. intracellul. mening.* nahe verwandte, doch nicht mit ihm identische Art. Hořička und Poledne untersuchten des Nasensekret nicht nur von Genickstarrekranken, sondern auch von Gesunden aus der Umgebung dieser Kranken, sowie von Gesunden, die mit Meningitis in keinerlei Berührung gekommen waren, mit Leuten auf den Kriegsschiffen sowie auf entfernten Gebirgsorten und Inseln. Sie fanden bei allen diesen einzelnen Gruppen so und so viele, die mikroskopisch meningokokkenähnliche Mikroorganismen aufwiesen. Nachdem sie jedoch nur in wenigen Fällen Kulturen angelegt hatten, ließen sie die Frage offen, ob es sich nicht um den *Micrococcus catarrhalis* gehandelt hat. Ebenso fanden sie bei Masernkranken im Nasensekret mikroskopisch viele meningokokkenähnliche Mikroorganismen, während bei Mumps auch mikroskopisch negatives Resultat sich fand. Deshalb kann der einfache mikroskopische Nachweis zur Diagnose des *Microc. intrac. men.* nie und nimmer genügen, für eine exakte Diagnose muß der *Microc. catarrh.* sorgfältig vom *Microc. intrac. men.* besonders kulturell differenziert werden.

Die ersten, die den kulturellen Nachweis des *Meningococcus* bei der die Genickstarre begleitenden Rhinitis erbrachten, waren Albrecht und Ghon, bald folgten noch mehrere Arbeiten von Ostermann, v. Lingelsheim, Westenhöffer, Flügge, Kolle und Wassermann, Jaroslav Hořička und Poledne, Jakobitz, Drigalski, Weichselbaum und Ghon.

(Schluß folgt.)

*Nachdruck verboten.*

# Les maladies bryocytiques (maladies à protozoaires).

4<sup>e</sup> Mémoire.

## La Syphilis.

Par le Dr. F. J. Bosc, Professeur à l'Université de Montpellier.

Avec 17 figures.

### Introduction.

De par son étiologie ordinaire, la syphilis est regardée, au point de vue social, comme une maladie honteuse; au point de vue médical, sa division arbitraire en trois périodes, l'apparente singularité de ses symptômes l'ont fait envisager comme une maladie extraordinaire et sans parenté dans le cadre nosologique.

En réalité, la syphilis est simplement une maladie éruptive.

Depuis 1901 (et malgré des critiques formulées contre mes idées avec trop peu de réserve<sup>1</sup>), j'ai développé dans une série de travaux (31, 32, 33, 35, 36, 37, 38, 42, 45, 46) les raisons d'ordre symptomatique, histologique et pathogénique qui m'ont fait placer la syphilis au voisinage immédiat des maladies varioliques.

De par les caractères de son cycle éruptif aigu et de par ses lésions, la syphilis présente, en effet, la ressemblance la plus frappante avec la clavelée et l'on peut dire que l'identité est complète lorsque la syphilis guérit après la première poussée de son exanthème. D'autre part, l'apparition, après des latences très longues, de poussées éruptives nouvelles qui indiquent la persistance indéfinie du virus syphilitique dans l'organisme, et aussi le caractère paroxystique des symptômes, rapprochent étrangement la syphilis de la malaria.

La syphilis apparaît, dès lors, parmi les maladies bryocytiques, comme un chaînon intermédiaire aux maladies varioliques (maladies aiguës, à guérison rapide suivie d'immunité) et aux maladies qui, comme la malaria, présentent à la suite de leur cycle aigu d'invasion une persistance indéfinie démontrée par l'apparition de paroxysmes nouveaux ou une évolution morbide chronique.

### I.

#### Symptomatologie générale.

La syphilis est une maladie éruptive caractérisée par un accident d'inoculation suivi d'une éruption généralisée et par la possibilité, pendant toute la vie de l'individu, d'accidents nouveaux en rapport avec la persistance du virus dans l'organisme. Nous aurons donc à étudier un cycle éruptif aigu ou d'invasion, qui fixe les traits essentiels du type morbide, et un cycle consécutif ou chronique.

---

<sup>1</sup> Voir le mémoire de Borrel, Epithélioses infectieuses et épithéliomes. (Annal. de l'Inst. Pasteur. 1903.)

### Cycle éruptif aigu ou d'invasion.

La syphilis guérie après la roséole, c'est à dire limitée à son cycle aigu, ressemble très exactement aux maladies varioliques, en particulier à la clavelée. La présence d'un accident d'inoculation apparent dans la syphilis et son absence dans la variole ou la clavelée spontanées dépendent des conditions étiologiques: la syphilis s'inocule par contact direct d'une surface de revêtement, tandis que le virus variolique ou claveleux pénètre par les voies respiratoires, comme nos expériences en montrent la possibilité (46). D'ailleurs la variole spontanée peut débiter par une Master-pocken à la peau, et d'autre part, l'inoculation aux téguments du virus vaccinal variolique, claveleux, aussi bien que du virus syphilitique, donne naissance, dans tous ces cas, au développement d'une lésion primaire, d'un véritable chancre qui débute exactement au point d'introduction du virus. Enfin la syphilis conceptionnelle montre que la syphilis peut, comme la variole spontanée, être généralisée d'emblée.

Le cycle éruptif aigu comprend: le temps qui s'écoule entre le contact infectant et le début apparent du chancre (incubation); une période qui va du début apparent du chancre à l'éruption généralisée (période prééruptive); enfin une période éruptive.

A. Phase d'incubation. C'est la période silencieuse nécessaire au virus pour arriver à produire, au point d'inoculation, une lésion visible à l'œil nu.

Cette incubation nette pour toutes les maladies varioliques est ordinairement de 3 jours dans la clavelée, mais elle peut atteindre 6, 8 et même 10 jours. Dans la syphilis la durée de l'incubation peut ne pas dépasser 10 jours; on lui accorde, en général, une moyenne de 25 jours. Chez le chimpanzé, l'incubation a une durée moyenne de 30 jours (Metschnikoff et Roux).

La quantité de virus inoculé paraît jouer un rôle dans la longueur de l'incubation: la syphilisation de l'homme par du sang virulent où le virus est très rare présente une incubation plus longue que par sérosité chancreuse où le virus est abondant. J'ai montré, pour la clavelée, que après inoculation de sang, l'incubation est 2 à 3 fois plus longue qu'après inoculation de claveau; et c'est bien la quantité de virus qui est en cause et non sa qualité, car après ce retard du début, on voit se développer une clavelée extrêmement virulente.

Pendant l'incubation, le virus pullule, en effet, au point d'inoculation et la preuve en est fournie par la syphilis vaccinale où l'inoculation d'une trace de sérosité d'une pustule vaccinale développée chez un enfant syphilitique et non encore d'aspect chancreux, donne à la fois, à un enfant sain, la vaccine et la syphilis.

Le chancre résulte donc de l'action latente, sur les tissus, du virus syphilitique en pullulation locale. On peut affirmer dès lors, qu'à partir du contagement, la lésion syphilitique d'inoculation, non apparente, présente des propriétés croissantes de contamination.

Comme à partir du moment où il devient apparent le chancre ne progresse que très lentement, nous avons toute raison de penser que la réaction des tissus a dû commencer dès la pénétration du virus et que si elle demeure, pendant 25 jours, trop faible pour être apparente aux regards, elle doit être perceptible à l'examen histologique. Et en effet, Unna, examinant le chancre dès sa première apparition, a constaté, chez l'homme, des altérations vasculaires si accusées qu'il faut admettre qu'elles étaient en évolution depuis déjà longtemps; Salmon a vu que, chez le chimpanzé, la tache érythémateuse qui constitue l'extrême début du chancre apparent est due à un processus de réaction périvasculaire déjà ancien. Levaditi et Manouélian ont fait les mêmes constatations (19). Le chancre existe donc, en réalité, bien avant qu'il ne devienne visible et il faut distinguer un début réel ou histologique et un début apparent.

Le virus syphilitique demeure-t-il strictement localisé, pendant l'incubation, au point d'inoculation, ou bien passe-t-il dans le sang presque aussitôt après le contagement? Les expériences de Metschnikoff et Roux établissent que le virus est encore strictement localisé au point d'inoculation au moins une heure  $\frac{3}{4}$  après son introduction une friction mercurielle faite au bout de ce temps, au niveau du point d'inoculation

empêche le développement de toute manifestation syphilitique. Il semblerait, d'après une autre expérience, que cette localisation du virus soit d'au moins 24 heures: après inoculation de virus syphilitique à la pointe de l'oreille d'un chimpanzé, ces auteurs font au bout de 24 heures l'ablation de cette partie de l'oreille et il ne se développe pas de syphilis. Mais l'on peut objecter que par l'ablation d'une partie de l'oreille on n'a pas seulement agi sur le point d'inoculation mais qu'on a enlevé aussi la région lymphatique voisine dans laquelle le virus pouvait avoir pénétré. Cette expérience prouve au moins que 24 heures après l'inoculation, l'infection n'est pas encore ganglionnaire.

D'autre part comme le chancre est suivi au bout de 5 à 6 jours d'une lymphite et au bout de 6 à 8 jours d'une adénopathie, si l'on admet que comme pour le chancre, le virus subisse une incubation de 25 jours dans les lymphatiques et le ganglion, nous devons en conclure que le virus syphilitique a déjà pénétré dans les lymphatiques et, jusque dans les ganglions régionaux, de 5 à 10 jours après le contagé. La première incubation de 25 jours ne correspond donc pas seulement à l'incubation du chancre mais à celle de la lymphite et de l'adénopathie, c'est à dire à la pullulation régionale du virus. L'infection syphilitique ne demeure donc strictement localisée au point d'inoculation qu'un temps très court, encore à déterminer; elle devient rapidement régionale mais n'est pas encore généralisée.

Pour admettre une généralisation d'emblée ou très rapide du virus il faudrait que la période d'incubation ne fut pas silencieuse; ou bien il faudrait faire la preuve de la virulence du sang ou encore de l'immunisation totale de l'organisme dès cette période.

Or la virulence du sang n'a jamais été démontrée pendant la période d'incubation et j'ai fait voir que, dans la clavelée, le sang prélevé pendant cette période est dépourvu de virulence.

L'immunisation totale de l'organisme n'existe pas davantage puisqu'il est possible d'observer des chancres successifs: chez l'homme et chez le chimpanzé, des inoculations de virus syphilitique pratiquées 4, 12 et même 15 jours après le contagé peuvent donner naissance à des chancres (chancres successifs). Après le 15<sup>e</sup> jour l'inoculation est rarement positive quoiqu'on en ait signalées au 29<sup>e</sup> jour. La clavelée offre, à cet égard, une grande ressemblance avec la syphilis, car si l'on fait, tous les jours, une inoculation cutanée de claveau, on obtient une série de chancres claveloux de plus en plus petits. Ainsi est démontrée la possibilité de l'inoculation du virus pendant toute la durée de l'incubation et par suite l'absence d'une immunisation générale. On remarquera en outre que l'éruption généralisée syphilitique qui fait la preuve évidente de l'infection du sang n'apparaît qu'après un temps presque double de celui de la période d'incubation (45 jours après la fin de l'incubation), de sorte qu'en admettant que le virus venu du sang ait subi une incubation de 25 jours dans le peau, il devient évident que le virus n'est passé dans le sang que longtemps (20 jours) après la fin de l'incubation. Cette notion de l'infection régionale rapide sans infection généralisée est de la plus haute importance pour juger de la valeur de l'éradication du chancre comme traitement abortif de la syphilis. A priori l'absence d'infection générale paraît être en faveur de la méthode, mais en réalité la localisation exacte au point de contagé ne dépasse pas quelques jours et le ganglion est déjà infecté dix jours après l'inoculation. Donc, d'une façon certaine, toute éradication même la plus large devient inutile de 6 à 10 jours après le contagé et à plus forte raison toute éradication faite après le début apparent du chancre apparaît-elle comme absolument vaine<sup>1)</sup>. Seule une ablation du point d'inoculation faite quelques heures et peut être encore 24 à 48 heures après le contagé peut avoir quelques chances de succès et le maximum de chances existera pour le cas où l'on aura affaire à un virus à incubation très longue et qui n'eût progressé qu'avec une très grande lenteur du chancre dans les lymphatiques.

En résumé, la période d'incubation est une période silencieuse pendant laquelle le virus pullule dans le point d'inoculation et se répand rapidement dans toute la région lymphatique et jusqu'aux ganglions, déterminant des réactions réelles des tissus (chancre réel ou histologique), mais non encore visibles à l'œil.

#### B. Phase prééruptive.

Les syphiligraphes ont appelé deuxième incubation la période de durée moyenne de 45 jours qui va du début apparent du chancre

1) Peut-être faut-il faire exception pour certains virus qui paraissent avoir une localisation exceptionnellement longue au point d'introduction.

jusqu'à l'apparition de l'éruption, celle-ci marquant le début de l'infection généralisée.

Tout d'abord, la proposition d'après laquelle l'éruption constituerait la première manifestation de l'infection généralisée n'est acceptable pour personne. Il faut s'élever contre deux notions trop répandues: que les premiers phénomènes généraux sont contemporains de la roséole et que la généralisation ne saurait s'effectuer tant que le chancre persiste. L'éruption générale peut apparaître avant la cicatrisation du chancre et c'est bien longtemps avant l'apparition de la roséole qu'apparaissent les premiers phénomènes infectieux, assez apparents pour ne passer inaperçus au moins dans 50% des cas.

Malheureusement si on a poussé jusqu'à une minutie invraisemblable, l'étude morphologique des efflorescences, la plupart des syphiligraphes hypnotisés par l'idée de la syphilis maladie exceptionnelle de par ses néoformations de types distincts ont à peu près complètement laissé de côté son étude générale. C'est l'étude des phénomènes généraux et la recherche du moment de leur apparition qui nous renseignera sur le moment où le virus passe dans le sang.

Mais avant d'entreprendre ces recherches, voyons si nous ne pouvons pas, par un simple raisonnement, fixer approximativement le moment de l'infection du sang circulant.

Si le virus met 25 jours pour produire au point de contagé une lésion apparente, il est rationnel d'admettre que ce virus porté à la peau par le sang mettra aussi 25 jours pour y former un élément éruptif visible: l'incubation de l'élément éruptif cutané doit être de 25 jours environ comme celle du chancre. La deuxième incubation, qui est l'incubation de l'exanthème, ne pourra donc pas être de 45 jours, comme l'admettent les auteurs, mais elle devra être limitée aux 25 jours qui précèdent l'exanthème et c'est là la deuxième incubation vraie. Il en résulte dès lors que le virus pénètre dans le sang au moins 25 jours, en moyenne, avant le début de l'éruption généralisée. Et comme les réactions locales du virus, pendant l'incubation sont silencieuses, si des phénomènes généraux surviennent ils seront bien la manifestation de l'infection généralisée. Si enfin la clinique nous montrait que ces phénomènes généraux ne se produisent pas plus de 25 jours avant l'exanthème nous serions en droit de penser que le virus ne séjourne pas dans le sang mais, qu'à mesure qu'il y est versé, il ne fait que traverser le courant circulatoire pour aller se fixer à la peau ou aux organes.

La phase de 45 jours qui va du début apparent du chancre à l'éruption généralisée devrait donc être divisée en deux périodes: l'une de 20 jours qui constitue une période d'accroissement du chancre avec localisation régionale du virus et l'autre de 25 jours constituée par l'incubation de l'exanthème avec superposition de l'infection généralisée.

Si le raisonnement que nous venons de faire est juste nous devons voir l'étude des faits en faire la vérification.

D'abord, l'observation doit nous montrer que la période qui va du début apparent du chancre jusqu'à l'apparition de l'exanthème est bien en moyenne une fois  $\frac{1}{2}$ , à deux fois plus longue que la première incubation.

Or la plupart des auteurs pensent et Mauriac (3) écrit que la 2<sup>e</sup> incubation (sens ancien) est une fois  $\frac{1}{2}$  plus longue que la première, et le dépouillement que j'ai fait de nombreuses observations dans lesquelles les dates exactes du contagé, du début apparent du chancre et de l'apparition de l'exanthème étaient notées, m'a montré que la durée moyenne de cette 2<sup>e</sup> incubation (sens ancien) est bien une fois  $\frac{1}{2}$ , à 2 fois plus

longue que celle de la première<sup>1)</sup>. Les chiffres moyens schématiques admis par les auteurs en font la démonstration, la première incubation étant de 25 jours et la seconde de 45. Les chiffres moyens obtenus chez le chimpanzé par Metschnikoff et Roux sont de 30 jours pour la première incubation et de 33½ pour la seconde (sens ancien); mais ces chiffres ne sont pas comparables le premier portant sur une moyenne de 22 cas et le second seulement sur les 8 cas où l'éruption généralisée s'était produite.

La première partie de notre raisonnement est donc vérifiée: la seconde incubation (sens ancien) présente une durée bien plus longue que la première.

Voyons maintenant si la seconde incubation vraie, c'est à dire le passage du virus dans le sang, débute 25 jours environ avant l'exanthème.

Pour en faire la démonstration nous nous appuyons sur: le début de la résolution du chancre, le moment d'apparition de la virulence du sang, l'absence d'immunsation générale et enfin l'apparition des premiers phénomènes généraux.

J'ai montré que, dans la clavelée, le virus apparaît dans le sang vers le 8<sup>e</sup> jour, c'est à dire au moment du ramollissement de l'accident primitif; le ramollissement du chancre syphilitique se produit le 21<sup>e</sup> jour après son début, c'est à dire 25 jours avant l'exanthème, ce qui correspond bien au début de la seconde incubation vraie ainsi que nous l'avons indiqué. La recherche de la virulence du sang n'a pas été faite d'une façon assez précise pour qu'on puisse en tirer un argument quelconque. L'étude des chancres successifs a une plus grande valeur: déjà nous avons vu que l'inoculation pendant toute première incubation était suivie d'un résultat positif; mais le virus syphilitique peut donner naissance à des chancres successifs pendant encore une grande partie de l'évolution même du chancre apparent: le chancre d'un malade peut être réinoculé à ce malade pendant au moins une quinzaine de jours. Les syphiligraphes tendent à admettre qu'un chancre âgé de quinze jours n'est plus réinoculable, mais cette limite paraît pouvoir être reculée si l'on tient compte de ce que les derniers chancres venus offrent un développement de plus en plus faible et peuvent être réduits à une papule à peine apparente. L'on voit donc que dans les 20 jours qui suivent le début du chancre, l'immunité générale n'existe encore pas, que le virus demeure encore localisé dans la région du chancre, quoique cependant, vers la fin, la diminution de plus en plus grande des chancres indique une progression vers l'immunité.

Le moment d'apparition des phénomènes généraux doit nous fixer d'une façon encore plus précise sur le passage du virus dans le sang; et si ce moment est souvent difficile à préciser on peut cependant par une étude attentive, et surtout dans les syphilis malignes arriver à le déterminer. Déjà 21 jours avant l'éruption généralisée, il se produit de l'hyperleucocytose avec anémie et de l'hypertrophie de la rate (laquelle peut même se marquer 20 jours après le chancre); la fièvre qui ne survient jamais pendant les 15 premiers jours du chancre peut apparaître 20 jours avant l'exanthème; la céphalée et une perte de poids rapide (indice, comme dans la clavelée et la variole, d'une infection datant de quelques jours) peuvent se manifester dans les 15 jours qui précèdent l'éruption.

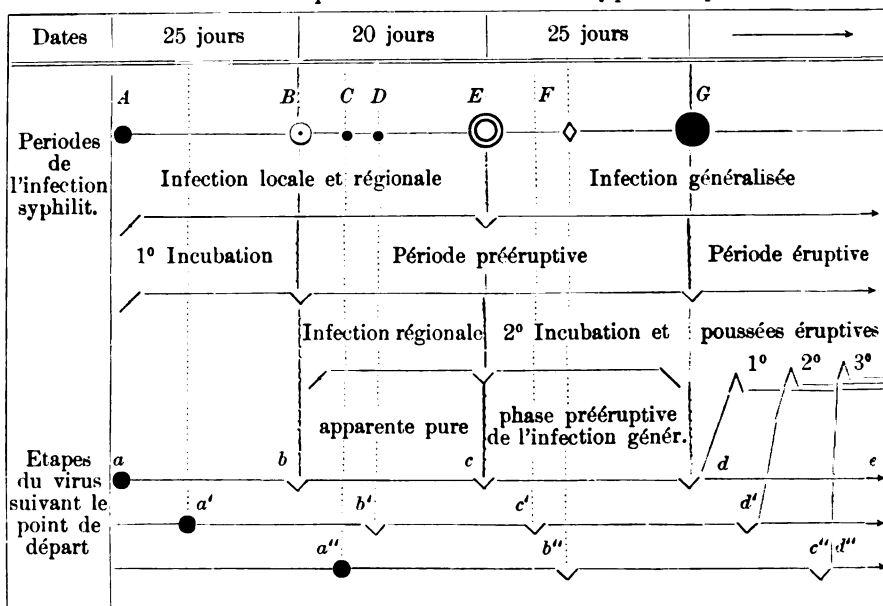
Les phénomènes généraux infectieux apparaissent donc de 20 à 25 jours avant l'exanthème et par suite le passage du virus dans le sang coïncide avec le début de la 2<sup>e</sup> incubation vraie, c'est à dire que le virus passé dans le sang 25 jours avant l'éruption ne fait que traverser le courant circulatoire pour aller se fixer dans les tissus.

La période qui va du début apparent du chancre à l'apparition de l'exanthème (deuxième incubation des auteurs) et à laquelle nous donnons le nom de période prééruptive, se divise dès lors en 2 phases: l'une qui est la phase d'infection localisée régionale (20 jours) pendant laquelle le virus pullule dans la région du chancre; l'autre est

1) Il faut tenir compte d'un élément impossible à évaluer; c'est le temps d'arrêt que le virus peut subir au niveau du chancre: Par exemple un chancre présente une première incubation de 21 jours et cependant la roséole n'apparaît qu'au 70<sup>e</sup> jour. En analysant ces cas, l'on voit que l'adénopathie n'est devenue apparente qu'au 35<sup>e</sup> jour; il y a donc en un retard dans la propagation du virus hors du chancre d'une trentaine de jours après lequel le virus reprend son activité expansive. Si l'on supprime ces 30 jours de temps mort<sup>1)</sup>, on voit que la deuxième incubation (au sens ancien) est de 70-30 = 40 jours, c'est à dire en réalité le double de la première. Dans d'autres cas la 1<sup>re</sup> incubation est au contraire bien plus longue que la moitié de la seconde, mais nous avons vu que des causes comme la quantité du virus inoculé suffisent pour rendre plus longue la première incubation, mais comme ce virus peut être très virulent, l'on comprend que les périodes consécutives à l'incubation première aient une durée normale

la phase prééruptive de l'infection générale ou seconde incubation vraie (25 jours) qui va du moment où le virus passe dans le sang jusqu'à l'exanthème (voir le tableau).

Tableau des phases de l'infection syphilitique.



Légende. A inoculation du chancre, B début apparent du chancre, C début apparent de la lymphite, D début apparent de l'adénopathie régionale, E début de l'infection générale (passage du virus dans le sang), F début de l'adénopathie généralisée, G début de l'éruption générale. a à e étapes du virus parti du chancre : a en b incubation du chancre, b en c chancre apparent, c en d deuxième incubation, d première poussée de l'éruption généralisée. De a' à d' étapes du virus parti du ganglion régional : a' inoculation du ganglion, a' en b' incubation du ganglion, b' en c' adénopathie apparente, c' en d' deuxième incubation du virus du ganglion passé dans le sang, d' deuxième poussée éruptive subintrante. De a'' en c'' étapes du virus parti de l'adénopathie généralisée : a'' inoculation des ganglions, a'' en b'' incubation, b'' début apparent de l'adénopathie généralisée, b'' en c'' évolution de l'adénopathie généralisée qui verse plus tard du virus dans le sang, en d'' (20 jours après c'') et entraîne une 3<sup>e</sup> poussée éruptive généralisée. Les lettres a, a', a'' correspondent donc aux inoculations virulentes, les lettres c, c', c'' aux passages successifs du virus dans le sang.

a) Période de l'infection régionale et de l'accident local pur : Elle correspond au développement du chancre apparent et à la pullulation du virus dans la région.

Le chancre syphilitique, un des signes le plus typiques de la syphilis, apparaît au point même du contact; il n'est toutefois pas plus indispensable pour le diagnostic qu'une pustule d'inoculation apparente pour la variole ou la clavelée. Le chancre induré n'évolue pas comme une lésion phlegmasique banale, mais comme une néoplasie dure, à croissance lente et qui, comme le chancre variolique, vaccinal ou claveleux passe par les stades de papule, vésicule, pustule pour disparaître par résolution spontanée. Chez l'homme, comme chez le chimpanzé, son début apparent est la tache érythémateuse à laquelle succède une maculo-papule rouge sombre et bientôt une induration boutonneuse et plus tard un nodule tuberculoforme cuivré. de plus en plus induré dont le centre présente un ramollissement desquamatif (chancre papuleux) ou une vésicule suivie d'une érosion et d'une ulcération. L'ulcération peut être nue, decouler jambon cru ou recouverte d'une croûte. Tous ces stades sont exactement ceux du chancre claveleux tels que je les ai décrits (47) y compris la couleur cuivrée, jambon fumé qui est aussi nette que dans la syphilis. Vers le 20<sup>e</sup> jour, le chancre,

au maximum de son accroissement, a envahi toute l'épaisseur de la peau et constitue une tumeur enchassée dans le derme, creusée en godet ou en cratère et d'autant plus indurée qu'elle s'est développée dans un tissu plus compact (lèvres). Il ressemble encore en ceci au chancre claveleux qui est très dur, saillant, limité quand il se développe dans le tissu dense de la queue du mouton et qui demeure mou et prend le diamètre d'une pièce de cent sous quand il se produit dans la peau fine et très lâche des environs de l'anus. L'induration n'est pas un caractère spécifique du chancre syphilitique: elle peut faire défaut dans certains chancres syphilitiques, elle existe pour le chancre vaccinal et j'ai observé des chancres claveleux d'une dureté ligneuse, de couleur cuivrée avec ulcération en godet profond. Parfois le chancre syphilitique revêt de grandes dimensions surtout à la face où il peut prendre l'aspect typique de l'épithélioma cutané et même d'un cancer à tubérosités volumineuses.

Pendant la période d'accroissement, il peut se produire au voisinage immédiat du chancre une éruption papuleuse qui constitue une éruption satellite identifiable à la master-pocken de la variole ou à l'éruption satellite intense que j'ai décrite dans la clavelée. Ces éruptions satellites ne peuvent pas être confondues avec l'éruption généralisée: dans la syphilis elle est localisée au voisinage immédiat du chancre et apparaît plus d'une semaine avant le début de l'exanthème. J'en ai observé un cas dans lequel l'apparition en poussée brusque doit faire rejeter l'idée de chancres multiples. Cette syphilis-mère n'est pas mentionnée par les syphiligraphes; il la connaissent bien cependant mais, embarrassés pour l'interpréter, ils en parlent peu. Mauriac a donné le nom de chancres herpétiformes à des poussées de vésicules périchancéreuses qui s'induraient et s'ulcéraient; Fournier, Queyrat tendent à les considérer plutôt comme des chancres multiples et v. Dering comme des lymphangites localisées ulcéreuses. Leur étude dans la clavelée nous a montré (47) qu'il s'agissait en réalité d'une poussée éruptive locale indépendante de l'éruption générale et dûe vraisemblablement, en raison de la pullulation régionale intense du virus, à un envahissement, par ces derniers de petits capillaires terminaux congestionnées de la région voisine du chancre.

Les lésions régionales sont la lymphite et l'adénite produites par la pénétration rapide du virus dans les espaces lymphatiques (lymphite périchancreuse), puis dans les lymphatiques (lymphangite) et dans les ganglions qui en dépendent (adénite régionale). Nous avons vu que le virus a déjà envahi le ganglion dix jours après l'inoculation et Metschnikoff et Roux ont montré que chez le chimpanzé, comme chez l'homme, l'adénite suivait de quelques jours le début apparent du chancre.

La plaque de lymphite peut s'étendre autour du chancre et autour des troncs lymphatiques durs, du volume d'une plume d'or, sous forme d'un œdème élastique qui se résorbe spontanément ou peut passer à l'état scléreux. L'adénite est dure, aplegmasique, indolente; elle est parfois entourée d'une zone de lymphite qui conglomère (gangue périganglionnaire); plusieurs ganglions hypertrophiés et forme une masse du volume d'un œuf.

Dans certains cas, la peau s'œdématie, devient rose et on perçoit une fluctuation (hubon syphilitique) en rapport non avec un abcès, mais avec un processus de résorption spontanée commun à toutes les néoformations syphilitiques. J'ai décrit ce même tableau de lésions régionales dans la clavelée: „La pustule d'inoculation est suivie d'un engorgement induré des troncs lymphatiques qui, durs, indolents, moniliformes, peuvent atteindre le volume d'une grosse plume d'oie, aboutissent à des ganglions en hypertrophie énorme, d'une dureté ligneuse, indolents, roulant sous le doigt et dépourvus de tendance phlegmasique (Compt. rend. soc. biol. 1903. 5 déc.).“ Ces gros ganglion claveleux qui peuvent atteindre le volume d'un petit œuf de poule se coupent comme des navets et laissent s'écouler un suc abondant, sans trace de pus.

b) Phase prééruptive de l'infection généralisée ou deuxième incubation vraie. Elle commence 20 jours après le début du chancre et dure 25 jours, c'est à dire jusqu'à l'apparition de l'exanthème. Elle est marquée par le développement de phénomènes généraux en rapport avec la présence du virus dans le sang et par l'évolution du chancre.

Le chancre, vers le 21<sup>e</sup> jour, entre dans sa période de ramollissement qui dure 5 à 6 jours et marque le début du passage du virus dans le sang. Les chancres volumineux à induration succulente deviennent moins cuivreux, leurs bords se fondent dans une sorte d'œdème et ils se transforment en un noyau pâteux puis gélatiniforme. Le ramollissement aboutit à résolution spontanée limitée à la néoformation syphilitique laquelle disparaît par résorption (chancres non ulcérés) ou par élimination au dehors, en bloc ou par petites particules mortifiées.

Cette élimination aboutit à la formation d'une cavité intradermique d'autant plus profonde que le chancre pénétrait davantage le derme et comme ici, de même que dans les maladies varioliques, la réparation se fait par évolution fibreuse des cellules con-



jonctives néoformées et des plasmazellen qui bordent l'ulcération, il se produit une cicatrice déprimée, gaufrée, achromique et indurée qui se réduit de plus en plus par rétraction cicatricielle. La cicatrisation se poursuit pendant la période éruptive.

La lymphite et l'adénopathie subissent une évolution identique. Le ramollissement commence vers le 28<sup>o</sup> jour et peut aboutir à une élimination au dehors suivie d'une induration résiduelle. Il ne s'agit point d'une infection secondaire: pour le ganglion, comme pour le chancre, c'est l'hyperplasie elle-même et l'hyperplasie seule qui se ramollit spontanément et se résorbe ou s'élimine, processus commun à toute néoformation syphilitique comme aux néoformations variolique ou clavelleuse. L'adénopathie au lieu de demeurer régionale peut rapidement se propager: la pléiade inguinale peut s'accompagner d'une pléiade iliaque dans l'abdomen (Fournier). Le virus syphilitique envahit d'ailleurs tout le système lymphatique pour produire une adénopathie généralisée qui débute 15 à 20 jours après l'adénopathie régionale et atteint son maximum au début de l'éruption généralisée. Elle prend non seulement les ganglions accessibles à la palpation mais encore toutes les formations lymphoïdes profondes et peut constituer une véritable adénie syphilitique. Metschnikoff et Roux ont constaté cette adénopathie généralisée chez le chimpanzé.

Les symptômes de l'infection générale de la période prééruptive apparaissent vers le 20<sup>e</sup> jour après le chancre. Le virus déversé dans le sang ne fait qu'y passer pour aller se fixer aux tissus mais comme l'éruption se fait par poussées subintrantes le virus est déversé à plusieurs reprises dans le sang et pendant un temps considérable. Les symptômes de l'infection pourront donc se marquer 20 à 25 jours avant l'éruption et pendant toute la durée de la période prééruptive. L'étude générale de ces symptômes nous a montré que de même que dans la clavelle et la variole il y a deux phases, l'une prodromique proprement dite, souvent inaperçue, sur l'existence de laquelle j'ai insisté pour la variole (46), l'autre qui précède de peu l'éruption et qui mérite le nom de période d'invasion.

La phase prodromique débute 18 à 20 jours avant l'éruption et nous en avons déjà énuméré les symptômes: anémie, hypertrophie splénique, algies nocturnes paroxystiques, faiblesse générale, amaigrissement, insomnie, palpitation, exagération des réflexes, fièvre vespérale avec sueurs. Dans les syphilis malignes on peut constater d'emblée une atteinte profonde de l'organisme et surtout du système nerveux: céphalée intense, excitation, fièvre à type intermittent, sueurs, amaigrissement aigu et faiblesse nécessitant le séjour au lit.

La période d'invasion peut avoir la violence et la brutalité de celle de la variole et un cas de Jullien en est un exemple remarquable puis qu'on porta d'abord le diagnostic de variole. Elle précède l'éruption de 7 à 12 jours et se marque par: des douleurs paroxystiques, des frissons répétés, une fièvre élevée à type intermittent (quotidien ou tierce) à paroxysmes vespéraux ou nocturnes, avec stades de frisson, stade de chaleur prédominant suivi de chaleurs profuses et de retour à la normale. Le cas de Mauriac (3) réalise un type tierce parfait d'une durée de 14 jours (tracé I). La ressemblance avec la malaria est ici étroite et elle existe encore pour le type fébrile rémittent à exacerbations et s'accroît encore pour ces cas de syphilis qui, dès la période d'invasion, prennent le masque de la perniciosité. La fièvre peut être continue avec une symptomatologie de dothiéntérie, constituant la typhose syphilitique. Les troubles nerveux sont très importants et l'on constate aussi une anémie profonde et des pertes de poids brutales: c'est ainsi que 8 jours avant l'éruption généralisée, Morel-Lavallée a vu un malade perdre d'un coup 35 livres et j'ai indiqué cette émaciation brutale dans la clavelle (47).

(Fortsetzung folgt.)

Nachdruck verboten.

Zur Kritik der *Spirochaete pallida* Schaud.

[Aus dem zoologischen Institute der königl. Universität Berlin  
(Direktor: Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Fr. E. Schulze).]

Von Dr. Theodor Saling, Berlin.

Mit 2 Tafeln und 2 Textfiguren.

Die Luesforschung steht im Zeichen der *Spirochaete pallida*. Seit Schaudinn und Hoffmann (50) mit ihrer Entdeckung an die Öffentlichkeit traten und die *Pallida* in ätiologische Beziehung zur Syphilis brachten, hat sich in kurzer Zeit schon eine fast unübersehbare Spirochätenliteratur entwickelt. Obwohl die bis dahin gemachten trüben Erfahrungen mit Lueserreger, z. B. dem Lustgartenschen Bacillus, der ähnlich wie die *Pallida* von einer großen Reihe hervorragender Forscher bestätigt wurde, zur äußersten Vorsicht gemahnt hätten, so verhielt man sich aber auch hier nicht weiter skeptisch, sondern bestätigte voll hoffnungsfreudiger Zuversicht in einer Menge kleiner Berichte die Schaudinn'schen Befunde.

Abgesehen von vereinzelt, an lebendem Material vorgenommenen Beobachtungen, versuchte man, den Nachweis der *Pallida* im gefärbten Präparat durch zwei Methoden zu erbringen, nämlich durch die Giemsa-Färbung, wie überhaupt Anilinfarbstoffe, und neuerdings durch Silbermethoden.

Mit der zuerst in Anwendung gebrachten Giemsa-Tinktion hatte man nur recht spärliche Erfolge zu verzeichnen, die um so weniger beweisend waren, als es nicht gelang, den angeblichen Lueserreger von gleichgestalteten, harmlosen Spirochäten mit Sicherheit zu unterscheiden. Wenigstens ist es absolut unmöglich, aus der wechselnden Beschreibung seitens ihrer Entdecker oder aus den veröffentlichten Zeichnungen irgend etwas Spezifisches für die *Pallida* zu erkennen. Neuerdings betont auch Ganzer (Berl. tierärztl. Wochenschr. 1905. No. 48), daß es ihm nie gelungen sei, einen wirklichen Unterschied zwischen verschiedenen Mundspirochäten einerseits und der *Pallida* resp. *Refringentes* andererseits wahrzunehmen. Wie schwierig die Agnostizierung der sogenannten echten *Pallida* ist, erhellt auch daraus, daß Delbanco (Münch. med. Wchschr. 1906. No. 24) in einem Anuskondylom fast in Reinkultur vorgefundene Spirochäten als „*Pallidae*“ demonstrierte, während Paschen sie in der folgenden Diskussion als „*Refringentes*“ erklärte. Krienitz (Deutsche med. Wchschr. 1906. No. 22) hat sogar im Mageninhalt bei Carcinoma ventriculi Spirochäten angetroffen, die der von Schaudinn und Hoffmann abgebildeten *Pallida* völlig entsprechen. Die Berichte der übrigen Autoren ändern hieran nichts, denn die *Pallida* wird geschildert als lang und kurz, dick oder dünn, mit steilen und mit flachen Windungen, mit zugespitztem oder abgerundetem, ja knopfförmigem Ende, so daß man sich fragt: Was ist denn nun eigentlich das Erkennungsmerkmal?

Es ist übrigens nicht recht verständlich, wie Schaudinn — nachdem er die *Pallida* als Protozoon betrachtet wissen will — noch bestrebt sein kann, für sie eine fest umschriebene Form ausfindig zu machen, während doch bei den Flagellaten eine ausgesprochene Polymorphie

vorhanden ist. Daß aber die Spirochäten nicht zu den Protozoen gehören, sondern echte Bakterien sind, wie schon seit Ehrenberg allgemein angenommen wird, haben Bütschli (9), Koch (23), Thesing (56, 57) und Zettnow (62) hinlänglich nachgewiesen. Es hat sich nun hier seit einem Jahre eine große Verwirrung herausgebildet. Nachdem Ehrenberg bereits für eine Bakteriengattung mit der typischen Species *Spirochaete plicatilis* den Namen „*Spirochaete*“ vergeben hatte, durfte nach den vor mehreren Jahren international festgelegten Regeln der Nomenklatur diese Bezeichnung nicht mehr anderweitig benutzt werden. Als sich aber Schaudinn mit der Untersuchung des Entwicklungskreises des Laveranschen *Leucocytozoon Ziemanni* beschäftigte, gab er diesem Protozoon, weil ein Entwicklungsstadium äußere Aehnlichkeit mit einer Spirochäte aufwies, die Benennung „*Spirochaete Ziemanni*“ und brachte nun mit dieser als gleichwertig in Beziehung völlig andere Gebilde, die bis dahin bekannten Bakterienspirochäten. Diese Verwirrung wird durch eine kürzlich im III. Bande des „Handbuches für Tropenkrankheiten“ erschienene Arbeit Lühes nicht geringer. Zunächst führt Lühe für das *Leucocytozoon* die alte Benennung Laverans — wahrscheinlich auf die Thesingsche Richtigstellung hin — wieder ein, weil Schaudinns Bezeichnung „*Spirochaete*“ „kein systematischer, sondern nur ein morphologischer Begriff“ sei, bemüht sich aber dennoch, die Verbindung zwischen Protozoen und Spirochäten aufrecht zu erhalten, indem er sagt: „An *Leucocytozoon*, in dessen Entwicklung wir bereits ein Spirochätenstadium (!) kennen gelernt haben, lassen sich in Rücksicht hierauf (sic!) die sogenannten Spirochäten zur Zeit am besten anschließen!“ Sodann werden vom Autor 1) die eigentlichen Spirochäten aufgeführt, die sich mit den bisher „*Spirochaete*“ benannten Bakterien decken, 2) die im Blute schmarotzenden Spirochäten, von denen ein Zusammenhang mit *Leucocytozoon* nur vermutet wird und 3) die „Spirochäten bei Syphilis und Frambösie“, die aber bezeichnenderweise nicht „Spirochäten“ genannt werden. Soll etwa damit darauf vorbereitet werden, daß die „Syphilis-spirochäten“ nur noch als besondere Entwicklungsstadien eines noch unbekannten Erregers aufrecht zu erhalten sind?

Da Thesing (56), dessen Ausführungen ich mich durchaus anschließe, bereits auf die Unmöglichkeit der Unterscheidung der *Pallida* von anderen Spirochäten hingewiesen hat, so kann ich mich bei Erörterung der Giemsa-Epoche der *Pallida*-Forschung kurz fassen und will nur noch einiges anfügen, das mir für die Beurteilung der mit Anilinfarbstoffen tingierten Spirochäten nicht unwesentlich erscheint.

Zunächst sei auf den großen Widerspruch hingedeutet, der sich darin zu erkennen gibt, daß man die *Pallida* wohl immer zahlreich auf Ausstrichen von Exanthemen, Lippensklerosen, Genitalpapeln etc. vorfand, daß es aber bei der Ausstrichuntersuchung innerer Organe — wie Leber, Milz, Niere, Nebenniere — gar nicht oder nur unter ganz bestimmten Umständen, die ich weiter unten erörtern werde, einigen Forschern und dann erst nach stundenlangem Suchen gelang, einige wenige Exemplare zu entdecken. Bei der Schnittuntersuchung eben dieser Organe mißlang mittels der Färbung nach Giemsa oder mit anderen Anilinfarbstoffen der „*Pallida*“-Nachweis vollständig. Dies eigenartige Verhalten der *Pallida* muß selbst den Leichtgläubigsten stutzig machen, denn es liegt vom objektiven Gesichtspunkte aus kein Grund

zu der Annahme vor, daß ein Parasit — sei es nun Protozoon oder Bakterium — sich tinktoriell auf Ausstrichen oder Schnittpreparaten innerer Organe anders verhalten solle als auf Ausstrichen der Haut. An anderen Spirochäten (Hühnerspirochäten) hatte sich doch der Nachweis (31) führen lassen, daß diese sowohl im Ausstrich wie auf Gewebeschnitten Anilinfarbstoffe mit gleicher Begierde aufnehmen! Warum soll es bei der *Pallida* anders sein als bei allen anderen Bakterien und Protozoen?

Im Blute zeigte sich ebenfalls nichts Verdächtiges. Das muß in der Tat recht merkwürdig erscheinen, denn im Blute zirkuliert — zumindest in einer bestimmten Krankheitsperiode — ganz sicher der Lueserreger. Das ergibt sich am unzweideutigsten aus der Verimpfbarkeitluetischen Blutes, die von früheren Autoren beim Menschen und in letzter Zeit auch bei Affen von Neisser (40) und Hoffmann (22) mit Erfolg durchgeführt worden ist. Zwar erwähnten einige Autoren, daß sie — allerdings äußerst selten — vereinzelte Parasiten im Blute gesehen hätten, aber der Verdacht liegt zu nahe, daß sie es in diesem Falle mit Kunstprodukten, wie Fibringerinnsel, zu tun hatten. Die wenigen, im Anfange beschriebenen, spirochätenähnlichen Gebilde werden wohl auch heute nicht mehr von den Autoren aufrecht erhalten.

Was nun die vorhin angeführten Befunde der *Pallida* in Hautpapeln und auf Ausstrichen innerer Organe anbelangt, so möchte ich doch eins betonen: Solange eine genaue Spezifizierung nicht möglich war, hätte man jedenfalls alle die Fälle ausschalten müssen, wo eine Vergesellschaftung der *Pallida* mit anderen Spirochäten vorliegen konnte. Dies trifft für alle an der Oberfläche des Körpers gelegene Gewebspartieen zu, insbesondere für Mund- und Genitalteile, wo Spirochäten in Scharen vorhanden sind. Trotzdem sind aber zahlreiche derartige Fälle als beweiskräftig mitherausgezogen worden und man versteifte sich dabei auf die recht unsicheren Unterscheidungsmerkmale der Species. Wenn man mir entgegnet, daß selbst nach gründlichster Säuberung der Hautpapeln noch Spirochäten vorgefunden würden, so beweist dies nichts Gegenteiliges. Denn wenn sich an der Körperoberfläche überall, wo kleine Fäulnisherde sind, Spirochäten in Begleitung vieler anderer Fäulnisbakterien aufhalten, so werden von ihnen um so eher solche Stellen bevorzugt werden, wo durch pathologische Gewebsveränderungen ein besonders günstiger Nährboden geschaffen ist, und wir können uns dann nicht wundern, wenn wir dort die Spirochäten auch in tiefere Lagen und auch in die zugehörigen Lymphdrüsen eingedrungen finden, wohin ja bekanntlich jeder Parasit von außen her mit Leichtigkeit gelangen kann.

Der gleiche Einwand erstreckt sich auf die *Pallida*-Befunde in Ausstrichen innerer Organe. Ich besitze selbst solche Ausstriche von nicht ganz frischem Leichenmaterial eines syphilitischen Neugeborenen, auf denen auch diese Spirochäten vorhanden sind, aber auf denselben Präparaten finden sich gleichzeitig in großer Zahl auch die verschiedensten Bakterien, eben weil es sich um Material handelte, das vor der Behandlung in Fäulnis übergegangen war. Verwendet man also — wie es heute mit Vorliebe zu geschehen pflegt — z. B. totfaule Föten, so kann sowohl eine mortale, wie agonale, eventuell auch septische Infektion vorliegen. Für den Nachweis des Lueserregers ist daher unbedingte Erfordernis die Verwendung möglichst lebensfrischen, nicht anderweitig erkrankten Materials. Alle jene Fälle aber, in denen die Untersuchung nicht ganz frischen Materials

zu Grunde lag, müssen durchaus unberücksichtigt bleiben, da ihnen jede Spur von Beweiskraft mangelt. Daß aber die Spirochäten in frischen, sicher infektiösen Organen fehlen, beweist unter anderem z. B. der vollständig negative Befund bei den Untersuchungen, die Neisser (39) an inneren Affenorganen vornahm, die durch Impfung sich als infektiös erwiesen hatten.

Abgesehen davon, daß man inluetischem Gewebe unter Umständen Spirochäten finden kann, die aber zur Syphilis in keiner ätiologischen Beziehung stehen, möchte ich darauf aufmerksam machen, daß man bei der Deutung solcher zarten spiraligen Gebilde — wie es die *Pallida* ist — sehr vorsichtig sein muß. Es kann sehr leicht passieren, daß man fädige Gerinnungsprodukte für Organismen ansieht. Die Möglichkeit solcher Verwechslungen wird auch nicht von Spirochätenanhängern bestritten. So erwähnt z. B. Neumann (41), daß manche Kunstprodukte, wie fädenähnlich ausgezogene Kernreste, Schleim, Detritusmassen, Fett und dergleichen, wie sie beim Ausstreichen von Eiter, Smegma, Ulcerations- und verkästem Gewebe gelegentlich in den allerdünnsten und verschieden gewundenen Formen erhalten werden, eine Spirochäte vortäuschen könnten und wohl auch schon vorgetäuscht hätten. Sonderbarerweise will der Autor dies nur für die *Spirochaete refringens* gelten lassen, während auch Spirochätenanhänger, wie Schütz (52), ausdrücklich betonen, es gäbe „keine scharfen Kriterien, um im Einzelfalle stets eine *Pallida* von einer *Refringens* zu unterscheiden“. . . . . „Es gibt eben Abstufungen zwischen beiden.“ Auch Buschke und Fischer (10) heben hervor, daß bei der Beurteilung von Ausstrichen, ganz besonders aber für Blutuntersuchungen und Drüsenpunktionssaft größte Vorsicht geboten sei, denn „hier findet man gar nicht so selten außerordentlich ähnliche Gebilde, die selbst den Erfahrensten täuschen können — wie Fibrinprodukte etc.“

Außer derartigen Verwechslungen mit Kunstprodukten können auch andere Täuschungen insofern obwalten, als auch normale Gewebfasern in spiralig geschrumpfter Gestalt gelegentlich das Bild einer Spirochäte nachzuahmen vermögen. Fertigt man Geschabe von Hautstellen oder Ausstriche von irgend welchen Organen an, so ist es einleuchtend, daß sich infolge der Reibung auch in ihnen enthaltene Fäserchen auf dem Objektträger abstreifen, und zwar werden das gerade die feinsten, am wenigsten zugfesten Fasergebilde sein, wie Neurofibrillen und verschiedene Bindegewebsfasern. Omelczenko (42), der sich nach eigener Aussage schon 12 Jahre lang mit syphilidologischen Studien beschäftigt, legt gerade auf diesen Punkt das Hauptgewicht. Er geht sogar so weit, daß er auf Grund seiner Kontrollversuche die Ueberzeugung ausspricht, die *Spirochaete pallida* sei nichts anderes als Bindegewebsfasern, die eine spiralige Form angenommen hätten. Diese Deutung ist für manche Fälle wohl zu berücksichtigen, wenn ich auch der Ansicht bin, daß in erster Linie ein anderes Gewebelement Veranlassung zu solchen Verwechslungen geben kann, nämlich die Nervenendfibrillen, die sowohl Haut wie jedes Organ in der ausgiebigsten Weise und Verzweigung versorgen.

(Forts. folgt.)

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die Balanitis- und Mundspirochäten<sup>1)</sup>.

Von Prof. Erich Hoffmann und S. v. Prowazek.

Mit 1 Tafel.

Seitdem in der *Spirochaeta pallida* der Erreger der Syphilis erkannt worden ist, hat das Studium anderer bisher wenig beachteter Spirochätenarten an Interesse bedeutend gewonnen, einmal weil an diesen gemeinhin größeren Formen Einzelheiten des Baues und der Gang der Entwicklung leichter festgestellt werden können, dann aber weil es mit Rücksicht auf die mikroskopische Diagnose der Syphilis von größter Bedeutung ist, die zwischen den verschiedenen Spirochätenformen bestehenden Unterscheidungsmerkmale genau kennen zu lernen. Aus diesen Gründen haben wir an 2 Spirochätenarten, der bei Balanitis erosiva circinata vorkommenden und der im Munde des Menschen und Affen schmarotzenden, eingehendere Untersuchungen angestellt, deren Ergebnis unter Beifügung von Mikrophotogrammen und Abbildungen in Kürze mitgeteilt werden soll.

*Spirochaeta balanitidis.*

Wie Bataille und Berdal<sup>2)</sup> nachgewiesen haben, gibt es eine besondere, klinisch von der gewöhnlichen Balanitis wohl zu unterscheidende Form der Eichelentzündung, welche nicht nur durch den Coitus, sondern auch durch künstliche Ueberimpfung von einem Menschen auf den anderen übertragen werden kann. Beim Manne beginnt sie wenige Tage nach der Infektion mit kleinen, an Eichel und innerem Vorhautblatt auftretenden grauen Flecken, welche, schnell peripher fortschreitend, mit einander konfluieren und dann von konvexbogigen Linien begrenzte Erosionen mit charakteristischem schmalen, grauweißen Randsaum bilden. Ganz ähnliche Erscheinungen in der Gegend der Clitoris sind von Csillag und Druelle auch bei Frauen beobachtet worden. Da über diese in Deutschland noch wenig beachtete Geschlechtskrankheit soeben zwei ausführliche Arbeiten<sup>3)</sup> erschienen sind, halten wir es für überflüssig, auf die klinische Seite und die Literatur hier näher einzugehen und wenden uns sogleich der Schilderung der Balanitis-spirochäte zu.

Lange Zeit vor Berdal und Bataille (im Jahre 1837) hat A. Donné<sup>4)</sup>, der Entdecker des *Trichomonas vaginalis*, in den Genitalsekreten Syphilitischer unter dem Namen „*Vibrio lineola*“ eine grobe Spirochäte beschrieben, die aber nach der uns überkommenen Abbildung

1) Die Ergebnisse dieser Arbeit wurden bei der ersten Tagung der freien Vereinigung für Mikrobiologie am 9. Juni 1906 unter Demonstration der Mikrophotogramme und einiger Präparate von Hoffmann in Kürze mitgeteilt.

2) Berdal et Bataille, La balano-posthite érosive circinée. (La Méd. moderne. 1891. p. 340.)

3) Berdal, H., Traité pratique des maladies vénériennes. p. 538—581 (mit Abbildungen). Paris 1906, und Müller, R. und Scherber, G., Zur Ätiologie und Klinik der Balanitis erosiva circinata und Balanitis gangraenosa. (Arch. f. Dermat. u. Syphilis. Bd. LXXVII. p. 77.)

4) Donné, Alfred, Recherches microscopiques sur la nature des mucus et de la matière des divers écoulements des organes génito-urinaires chez l'homme et chez la femme. Paris 1837. (Die Abbildung Donnés hat Rille [Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 29] wiedergegeben.)

wohl der *Spirochaeta refringens* entsprechen dürfte. Als Entdecker der Balanitisspirochäte muß daher O. Simon<sup>1)</sup> angesehen werden, der im Jahre 1881 bei seinen Untersuchungen über die Aetiologie der Balanitis sehr bewegliche „Spirillen“, ganz ähnlich denen der Febris recurrens, beschrieben hat. Während aber Simon seine Befunde für zufällige hielt, haben Berdal und Bataille 1891 zuerst das regelmäßige Vorkommen von Spirochäten bei der oben geschilderten besonderen Form der Balanitis festgestellt und eine genauere Beschreibung dieser Mikroorganismen gegeben. Nach ihnen hat sich eine ganze Reihe von Forschern, von denen Csillag, Druelle, Rona, Vincent, Schaudinn und Hoffmann genannt sein mögen, mit diesen Lebewesen beschäftigt, und endlich haben Müller und Scherber und Berdal in ihren bereits zitierten Arbeiten unsere Kenntnisse auf diesem Gebiete zusammenfassend dargestellt.

Die Balanitisspirochäte<sup>2)</sup> wurde von uns zunächst eingehend lebend untersucht, dann wurden nach der Methode von Weidenreich<sup>3)</sup>, deren Prinzip wesentlich darin besteht, daß das Balanitismaterial auf vorher Osmiumdämpfen ausgesetzten Deckgläschen oder Objektträgern rasch ausgestrichen wird, die Balanitisspirochäten fixiert und in der Folge entweder nach Loefflers Geißelfärbung oder mit Giemsa's Eosinazur gefärbt. Bei der Herstellung muß man besonders darauf achten, daß das Material vorher gut mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt und recht schnell ausgestrichen wird. Für die Untersuchung eignete sich besonders Loefflers Geißelfärbung, während Heidenhains Eisenhämatoxylin keine guten und hinreichend scharfen Bilder lieferte.

Was das Verhalten der genannten Spirochäte verschiedenen Reagentien gegenüber anbelangt, so sei hier gleich im Zusammenhang erwähnt, daß die Spirochäten in 10-proz. NaCl-Lösung lichtbrechender und schmaler erscheinen, ohne daß eine Art von Plasmolyse eintritt, die Fischer<sup>4)</sup> den Einwänden von Mayer<sup>5)</sup> gegenüber für Vibrionen als besonders charakteristisch ansieht. In verdünnter Kalilauge wurden 2 Stunden nach der Herstellung des Präparates keine Spirochäten mehr gesehen; in vorher angesehenen Präparaten schienen sie wesentlich blasser zu sein und ihre Zahl war verringert.

In destilliertem Wasser und Glycerin sterben die Spirochäten ab, ohne ihre Windungen, die allerdings etwas flacher werden, einzubüßen. Müller und Scherber konnten in einer Glycerinaufschwemmung auch keine Beweglichkeit der Lebewesen mehr nachweisen.

Mit Neutralrot färbt sich vornehmlich der Periplast schwach gelbrot, also in einer Farbennüance, die auf eine alkalische Reaktion hinweist.

Mit Methylenblau färben sich die Spirochäten vital im Deckglaspräparat leicht blau, im hängenden Tropfen, wo sie wohl unter Einfluß des O bald weniger beweglich werden, dunkler blau, und ihr Zellleib

1) Simon, O., On balano-posthomykosis. (Transact. of the internat. med. Congr. London 1881. Vol. III. p. 138.) Diesem Autor verdanken wir bekanntlich die Entdeckung von Oidium-Pilzen als Ursache der Balanitis der Diabetiker.

2) Zur Untersuchung wurden nur typische frische Fälle ohne Nekrose oder Ulceration herangezogen.

3) Weidenreich, F., Ueber eine einfache Methode zur Darstellung von Blut-trockenpräparaten. (Folia haematologica. Jahrg. III. 1906. No. 1.)

4) Fischer, A., Ueber Plasmoptyse der Bakterien. (Ber. der botan. Gesellsch. Jahrg. XXIV. 1906. Heft 2.)

5) Mayer, A., Ueber Kugelbildung und Plasmoptyse der Bakterien. (Ber. der deutsch. botan. Gesellsch. Bd. XXIII. 1905. Heft 8.)

weist in einzelnen Fällen hellere Lücken auf. In einem Falle blieben die Spirochäten, nachdem sie sich in mit Methylenblau versetzter physiologischer NaCl-Lösung zunächst schwach blau gefärbt hatten, im Deckglaspräparat noch am 10.—20. Tage der Beobachtung beweglich; die anfänglich blaue Färbung blaßte im Verlaufe des 2.—3. Tages wieder ab, und es schieden sich lange Kristalle im farblos gewordenen Präparat ab.

Im Deckglaspräparat, in welchem das Material mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt wurde, sind die ziemlich stark lichtbrechenden, gewöhnlich 6—10 Windungen besitzenden Spirochäten lebhaft beweglich, indem sie sich schraubenförmig vor- und rückwärts drehen oder seitliche schlängelnde Bewegungen ausführen. Besonders in vor längerer Zeit angefertigten Präparaten kann man die Wahrnehmung machen, daß nach verschiedenen langen Ruhepausen unregelmäßige, scharf ansteigende Wellen, mit stetig sich über den ganzen Zelleib verschiebenden, stark lichtbrechenden Knotenpunkten dahinflaufen. Bereits diese jederzeit leicht wahrnehmbare (Zeiss, homog. Immers. 2 mm, Komp.-Okul. 8) Erscheinung deutet darauf hin, daß der Zelleib der Spirochäte nicht einfach rund, fadenförmig, sondern bandförmig, wie bei der Hühnerspirochäte ist. Diese Verhältnisse der äußeren Körperform bringt die mit Abbes Zeichenapparat nach dem Leben entworfene Zeichnung ein und derselben Spirochäte bei (a) hoher und (b) tiefer Einstellung (Fig. 12) zur Darstellung.

Bei in ihrer Bewegungstätigkeit erlahmenden Spirochäten, etwa am 3.—5. Tage der Untersuchung (Deckglaspräparat), bewegen sich zuweilen nur noch die Enden der Lebewesen, und man gewinnt mitunter den Eindruck, als ob die später noch zu schildernden Periplastfortsätze hin und her schwingen würden, während der Körper selbst nur ab und zu ruckweise schnellende Bewegungen ausführt. Beim Absterben der Spirochäten bleiben die Windungen erhalten und werden meist nur etwas flacher, während die Längsachse gerade oder unregelmäßig gekrümmt verlaufen kann.

Im hängenden Tropfen verlieren die Spirochäten offenbar unter dem Einflusse des O schon nach wenigen Stunden mehr oder weniger deutlich ihre Beweglichkeit, während man sie im mit Vaseline oder Wachs gut zugekitteten Deckglaspräparat lange Zeit (einmal 22 Tage) am Leben erhalten kann<sup>1)</sup>. Noch besser ist der Unterschied in der Beweglichkeit der Spirochäten festzustellen, wenn man statt physiologischer NaCl-Lösung Bouillon als Verdünnungsflüssigkeit wählt; während im hängenden Tropfen die Bewegungen bald schwächer werden, sind sie im Deckglaspräparat noch nach 6 und mehr Tagen äußerst lebhaft, und es findet schon bei Zimmertemperatur eine nicht unerhebliche Anreicherung der Spirochäten statt.

Bei eingehender Betrachtung mit starken Vergrößerungen kann man ferner an dieser Spirochäte im frischen Präparat die undulierende Membran als eine dichtere, stärker lichtbrechende Kontur des bandförmigen Leibes beobachten (Fig. 12), die selbst in der Ruhelage der Spirochäte in geeigneten Momenten sich in scharf ansteigende Wellenberge und Täler legt, und an die in erster Linie das oben erwähnte auffallende Spiel von über den Zelleib dahinflaufenden, optisch durch

1) Einmal waren noch nach 50 Tagen in einem solchen Präparat Spirochäten vorhanden und zum Teil noch etwas beweglich; auffallend war, daß zuletzt nur sehr feine und zarte Exemplare übrig blieben (vergl. Mühlens, Kulturergebnisse bei Mundspirochäten).

Hoffmann.



ein höheres Lichtbrechungsvermögen sich auszeichnenden Knotenpunkten zu beziehen ist. Mit Lugolscher Lösung behandelt, erscheinen diese groben Spirochäten noch deutlicher und schärfer abgegrenzt zu sein, und die undulierende Membran, die in den einfachen, nicht irgendwie vorbehandelten Ausstrichpräparaten wohl infolge von Schrumpfung des dicht an das Deckglas sich anschmiegenden Spirochätenleibes undeutlich wird, ist in diesen Fällen besonders schön wahrnehmbar.

Die Balanitisspirochäten sind, nach Giemsa's Methode gefärbt, bläulich-rot; die Präparate blassen aber bereits nach einigen Monaten ab, während die *Spirochaeta pallida* selbst nach 1 Jahre ihre charakteristische rötliche Färbung gewöhnlich beibehält.

In den nach Loeffler's Geißelmethode gefärbten Präparaten sieht man entweder bloß an dem einen oder an beiden Enden der Spirochäte oft geißelartige Fortsätze, die bei genauerem Studium der Objekte sich als geißelartige Periplastfortsätze<sup>1)</sup> enthüllen. Sie fangen mit einer konischen, nicht scharf abgesetzten, heller rot gefärbten Verbreiterung an und laufen häufig in ganz zarte Spitzen aus; auch geht die im Präparat fixierte Bewegungswelle des Spirochätenkörpers ohne irgendwelche Aenderung unmittelbar in sie über und klingt in ihrem weiteren Verlaufe in immer kleiner werdende Wellen aus. So wurden Exemplare mit etwa 6 Windungen beobachtet, von denen unmittelbar ein Periplastfortsatz mit 4 Windungen auslief (Fig. 3).

Manchmal schlägt dieser Periplastfortsatz, wohl infolge der bei der Präparation eintretenden Zerrungen, scharf um und stellt so an seiner Basis im fixierten Präparat einen deutlichen Knoten dar (Fig. 2).

Wieder in anderen Fällen sind diese dem Periplast angehörenden Anhänge nur in der Art von kurzen, stumpfen Fortsätzen vorhanden und können dann um so weniger mit einer Geißel verwechselt werden. Seitlich wurden nur in einigen wenigen Fällen geißelartige Gebilde in spärlicher Zahl beobachtet und konnten jedesmal als von anderen Mikroorganismen abgerissene Geißeln entlarvt werden.

Fig. 4. in der ein Endstadium der Teilung zur Darstellung gelangt ist, bringt möglicherweise die Erklärung für die Entstehung dieser „Periplastgeißeln“, die nach ihrem ganzen morphologischen Verhalten in vielen, wenn auch nicht in allen Fällen ausgezogene, stark verdünnte Periplastbrücken der voneinander sich trennenden, nach verschiedenen Richtungen sich bewegenden Tochterzellen sind. Bei *Trypanosoma lewisi* werden zuweilen die sich trennenden Trypanosomen auch in derartige Endfadenstücke ausgezogen<sup>2)</sup>.

1) Unter Periplast versteht man die membranartige, nach Giemsa rot färbbare, mit Trypsin und Pepsin unverdauliche Hülle der Trypanosomen und Spirochäten, die mit der Pellicula der Ciliaten zu vergleichen ist und die vielleicht zum Teil aus Lipoiden besteht. Ektoplasma ist die äußere, breitere Differenzierung des Zellleibes, die oft unmerklich in das Entoplasma übergeht, rein plasmatischer Natur ist und manchmal gegen die Peripherie zu eine alveolare Struktur (Alveolarsaum) besitzt. Tinktionen gegenüber verhält sich das Ektoplasma nie so different wie die eigentlichen Membranen, Pelliculae etc. Es ist dies eine Unterscheidung, die in der letzten Zeit vielfach außer Acht gelassen und auch von Zoologen nicht immer korrekt gehandhabt wurde.  
v. Prowazek.

2) v. Prowazek, Studien über Säugetiertrypanosomen. (Arb. a. d. kais. Gesundheitsamte. Bd. XXII. 1905. Heft 2. p. 4. Fig. 1.)

(Schluß folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Notes de Parasitologie.

[Institut d'Hygiène et de Parasitologie de l'Université de Lausanne.]

Par **Bruno Galli-Valerio.**

Avec 3 figures.

(Schluß.)

### B. Parasites animaux.

#### 1. Culture de *Coccidium hominis*. Riv. sur l'agar de Nissle et Wagener.

Dans un travail précédent<sup>1)</sup>, j'ai indiqué que cet agar peut servir non seulement à la culture des larves d'*U. duodenalis*, mais aussi à celle de quelques protozoaires. Ainsi si on délaye dans un peu d'eau des fèces de lapin contenant *C. hominis* et qu'on les étend en couche mince à la surface de plaques d'agar de Nissle et Wagener, on observe en 2 jours le phénomène de segmentation, et en 7—8 jours, la grande majorité des coccidies présente des mérozoïtes déjà formés, tandis que dans des plaques témoins, contenant seulement des matières fécales mélangées à l'eau, une bonne partie des coccidies dégénère et l'évolution est très lente à se produire. Les coccidies ainsi développées sur agar peuvent se garder pendant des mois en ajoutant seulement de temps à autre une goutte d'eau à la plaque. Elles peuvent de la sorte servir très bien pour des démonstrations de laboratoire.

#### 2. Observations sur *Treponema pallidum*. Schaudinn.

Au cours de quelques recherches sur *Treponema pallidum*<sup>2)</sup> j'ai eu l'occasion de noter que dans certaines préparations fixées à la flamme, les spirales étaient moins serrées et le parasite perdait beaucoup de ses caractères typiques. Sobernheim et Tomaszewski<sup>3)</sup> et Herxheimer<sup>4)</sup> ont attiré l'attention sur ce fait. Or j'ai pu constater que le phénomène se vérifie surtout si on chauffe à la flamme la préparation avant de la laisser sécher sur le porte-objet et le couvre-objet, tandis que si on laisse sécher à l'air et qu'on passe seulement après rapidement à la flamme, l'altération ne se produit presque jamais. Mais même lorsque cette altération se vérifie, comme Sobernheim et Tomaszewski ont noté, il est encore facile de distinguer *T. pallidum* à cause de sa finesse et surtout, si le Giemsa a été employé pour colorer, par sa coloration rougeâtre.

De toutes les substances colorantes que j'ai essayées, j'ai constaté que la solution de Giemsa, telle qu'elle est fournie par la maison Grübler & Co. est celle qui donne les meilleurs résultats. Des solutions vieilles de plus d'une année gardées dans un endroit sombre, colorent encore très bien *T. pallidum*. J'emploie des dilutions de cette solution à 1:10, 1:20 et je laisse agir de 5 à 15—20 heures. Par ce procédé, *T. pallidum* apparaît coloré en rougeâtre, tandis que les

1) Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XXXIX. p. 230.

2) Galli-Valerio et Lassueur, Rev. méd. de la Suisse romande. 1905. No. 7.

3) Münch. med. Wochenschr. 1905. p. 1857.

4) Idem p. 2212.

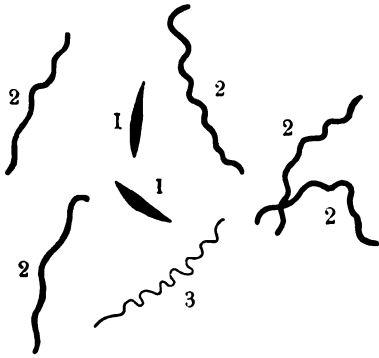


Fig. 1. 1 *B. hastilis*, 2 Spirilles,  
3 *T. pallidum*.  
(Oc. comp. No. 18. Ob. im. hom. 2 mm.  
Tube 17 cm. chambre claire.)

bactéries et les spirilles apparaissent fortement colorées en violacé foncé. La coloration par la solution de Giemsa donnera surtout de bons résultats dans la recherche de *T. pallidum* dans les ulcères syphilitiques de la bouche. Ces ulcères en effet, comme Babés vient de signaler<sup>1)</sup> et comme j'ai eu l'occasion de constater dans un cas (Fig. 1) peuvent être envahis par *B. hastilis* et par des spirilles parmi lesquels *T. pallidum* peut échapper. Or la coloration par le Giemsa est celle qui permet le mieux de mettre celui-ci en évidence parmi les bacilles fusiformes et les spirilles qui prennent une coloration violet foncé, tandis que *T.*

*pallidum* apparaît fin et coloré en rougeâtre.

### 3. Lésions du foie d'*Erinaceus europaeus* déterminées par *Trichosoma tenue* Duj.

Dans deux notes précédentes<sup>2)</sup>, j'ai attiré l'attention sur les lésions du foie de *Mus rattus* et *Mus decumanus* dues à *Trichosoma hepaticum* Bancr., lésions que depuis lors j'ai eu l'occasion de constater plusieurs fois sur *M. rattus* et *M. decumanus* à Lausanne. En 1889 une lésion analogue a été décrite chez un hérisson par Railliet et Lucet<sup>3)</sup> qui, ayant pu isoler un ver complet l'ont considérée comme déterminée très probablement par *Trichosoma tenue* Duj. ou par une espèce très rapprochée. Depuis lors, la présence de ces lésions chez *E. europaeus* n'a plus été signalée. Moi-même j'ai eu l'occasion d'examiner plusieurs de ces animaux sans jamais y constater de lésions du foie. Mais cette année, chez un hérisson pris dans les environs de Lausanne et qui présentait de graves lésions pulmonaires dues à *Crenostoma striatum* Zeder, j'ai trouvé le foie parsemé de tubercules blancs de la dimension d'une pointe à une tête d'épingle, légèrement proéminents à la surface du foie, confluent en certains points, et simulant tout-à-fait une tuberculose miliaire de cet organe. Par-ci par-là on trouvait à côté de ces tubercules des espèces de pelotons de filaments blanchâtres formant des taches irrégulières à la surface du foie. L'examen à frais du raclage de ces nodules et de ces pelotons, démontrait la présence d'une quantité énorme d'œufs jaunâtres à coque épaisse, formée de 3 membranes, présentant la forme de citron caractéristique des œufs des *Trichotrachélidés*. Ils avaient des dimensions de  $60 \times 70 \times 32-38 \mu$ . Quelques-uns semblaient déjà en voie de segmentation, tandis que la grande majorité était remplie d'une masse protoplasmique finement granuleuse. Quant au ver lui-même, il m'a été impossible de l'isoler. Je n'en ai eu que quelques fragments dans les points présentant les pelotons. Ces fragments présentaient une

1) Kollé und Wassermann, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Ergänzungsb. 1. Heft. p. 279. Jan. 1906.

2) Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XXXV. p. 81; Orig. Bd. XXXIX. p. 240.

3) Bull. de la soc. Zool. de France. T. XIV. 1889. p. 360.

fine striation transversale. Sur les coupes colorées au carmin aluné, on constatait que les œufs et les vers étaient contenus dans les canaux biliaires dont le lumen était obstrué et les parois épaissies (Fig. 2). En certains points, le parenchyme du foie était complètement remplacé par des amas d'œufs entourés de travées conjonctives. À quel Trichosome faut-il rapporter cette lésion? Avec Raillet et Lucet je crois qu'il s'agit plutôt de *T. tenue*

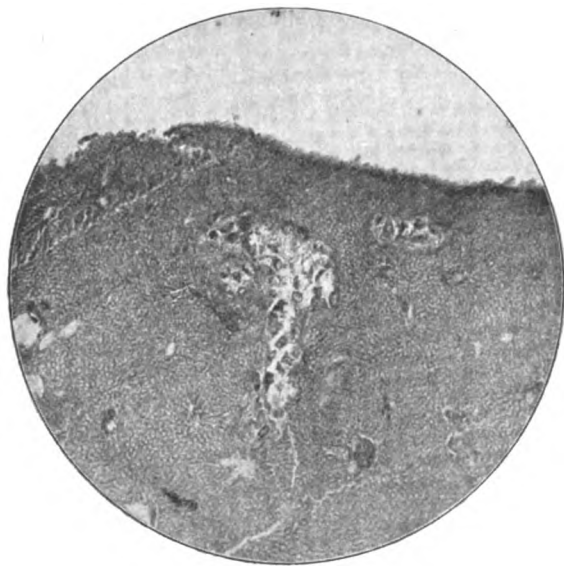


Fig. 2.

Duj. que de *T. exiguum* Duj. car les œufs de cette espèce présentent à la surface des proéminences ondulées qui manquent complètement dans les œufs examinés<sup>1)</sup>.

Cette lésion, comme celle de *Mus rattus* et *Mus decumanus*, mérite d'être signalée car au premier abord, si on ne pratiquait pas l'examen microscopique, elle pourrait en imposer pour une tuberculose ou pseudotuberculose bactérienne du foie.

#### 4. Sur un cas de trichinose musculaire de l'homme, observé à Lausanne.

Sur le cadavre d'un homme servant aux exercices d'anatomie, on avait remarqué dans les muscles un fin pointillé blanchâtre, visible à l'œil nu, et à l'examen microscopique on avait constaté qu'il s'agissait de larves de *T. spiralis* Owen. Grâce à l'obligeance de M. le Prof. Roud j'ai pu examiner quelques morceaux de ces muscles. Ceux-ci étaient parsemés d'un fin pointillé blanchâtre de la dimension d'une pointe d'épingle. Quelques-uns de ces points étaient d'une consistance dure, infiltrés de sels calcaires.

D'autres étaient moins durs, de sorte qu'on pouvait les examiner sans traitement par l'acide acétique. Soit les uns soit les autres examinés au microscope présentaient les larves de trichine enroulée en spirale sur elle-même telles qu'on les voit après leur mort. Chauffées sur platine de Schultze, ces larves ne présentaient aucun mouvement. Pour m'assurer que les larves étaient bien mortes j'ai donné à manger une grande quantité des muscles infectés à un cobaye et à un *Mus rattus*. Ces deux animaux n'ont présenté aucun trouble morbide, et tués après 3 mois n'étaient pas infectés de trichinose musculaire.

Il n'a pas été possible d'être renseigné sur l'origine du cadavre.

1) Stossich, Il genere *Trichosoma*. Trieste 1890.

La trichinose, comme on sait, n'existe pas en Suisse où l'on n'en a vu que quelques cas au Tessin (1869), à Bâle (1883), par conséquent il est presque sûr que l'infection de la personne en question a eu lieu en dehors de la Suisse.

##### 5. Sur la pénétration des larves d'*Uncinaria duodenalis* Dubini à travers la peau.

Dans une note précédente j'ai rendu compte de quelques essais faits sur moi et sur des cobayes, pour constater la pénétration des larves d'*U. duodenalis* à travers la peau<sup>1)</sup>. Je puis aujourd'hui confirmer que les expériences faites sur moi-même le 1<sup>er</sup> novembre et le 18 décembre 1904 ont complètement échoué. Je n'ai souffert d'aucun trouble et je n'ai point présenté d'œufs d'*Uncinaria* dans les matières fécales. Dans le travail dont je viens de parler, j'avais signalé qu'en expérimentant sur le cobaye, j'avais dans un cas trouvé une larve engagée avec la tête dans le follicule pileaire. À la suite de cette communication, M. le Dr. Hermann, directeur de l'Institut provincial de bactériologie du Hainault, avait l'amabilité de m'écrire (8 août 1905) qu'il avait pu aussi constater le passage de larves d'*U. duodenalis* à travers la peau des cobayes, mais qu'il n'avait jamais pu déterminer l'infection intestinale chez ces animaux soit par la voie cutanée soit par la voie de l'appareil digestif. Bien que la pénétration des larves d'*U. duodenalis* à travers la peau ne soit plus à démontrer aujourd'hui, car elle a été constatée par un grand nombre d'observateurs bien qu'elle ne réussisse pas toujours, ni sur tous les individus, j'ai voulu faire encore quelques recherches sur la pénétration de ces larves à travers la peau du cobaye et de *Mus rattus*. Pour ces expériences à un

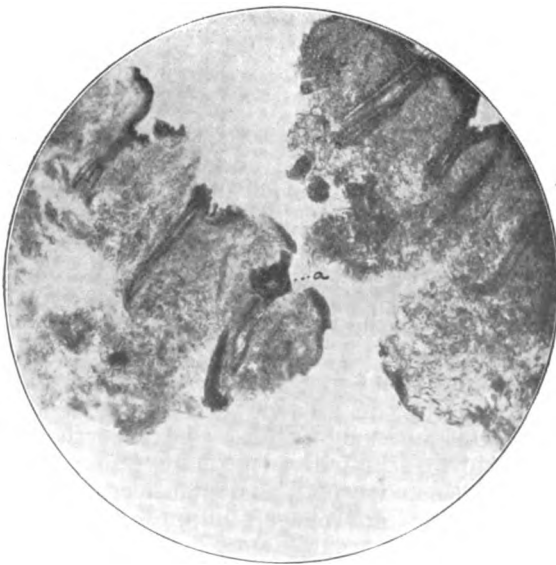


Fig. 3. Larve d'*U. duodenalis* ( $\alpha$ ) s'engageant dans un follicule pileaire.

cobaye, je n'ai fait que couper les poils sur la région abdominale; à un autre j'ai rasé une partie de la région abdominale en y faisant de petites lésions et sur une autre partie, après avoir coupé les poils, j'ai appliqué des compresses d'eau chaude; à un *Mus rattus* j'ai coupé les poils sur la région lombaire. Sur les régions dénudées de poils, j'ai appliqué à tous ces animaux une culture contenant d'abondantes larves encapsulées d'*U. duodenalis*. J'ai laissé en place jusqu'à dessiccation et

1) Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXIX. p. 230.

après avoir nettoyé soigneusement la surface inoculée avec de l'eau, j'ai excisé des fragments de peau que j'ai gardés dans l'alcool pour en faire des coupes.

Or tandis que chez *Mus rattus* je n'ai pas pu constater de pénétration des larves d'*U. duodenalis* dans la peau, j'ai trouvé de ces larves dans la peau des deux cobayes (Fig. 3). Elles étaient pourtant fort rares et jamais je n'ai pu constater une infection du genre de celle que j'ai pu constater dans les morceaux de peau d'un chien que M. Hermann avait infecté et qu'il avait eu l'obligeance de me transmettre. Il me semble donc que les cobayes offrent une certaine résistance à la pénétration des larves d'*U. duodenalis* à travers la peau, bien que cette pénétration se vérifie. Soit ces 2 cobayes, soit *Mus rattus* tués après 4 mois, n'ont pas présenté d'*U. duodenalis* dans l'intestin.

Pour vérifier le pouvoir de pénétration des larves d'*U. duodenalis*, M. Hermann a eu l'idée de les placer sur de la moëlle de sureau et il a pu constater comme elles y pénètrent par migration active<sup>1)</sup>. J'ai répété cette expérience en plaçant à la surface de petites rondelles de moëlle de sureau des gouttes d'eau contenant beaucoup de larves encapsulées, et j'ai placé ces morceaux sous une cloche pendant une nuit. Après fixation des morceaux dans l'alcool, coloration avec le carmin aluné, j'ai inclus dans la paraffine et fait des coupes. Or j'ai pu constater, comme Hermann, que les larves avaient pénétré dans la profondeur de la moëlle de sureau.

23 Mars 1906.

Nachdruck verboten.

## Neue Helminthen.

Von Dr. v. Linstow in Göttingen.

Mit 1 Tafel.

### *Heterakis cordata* n. sp.

Fig. 1

aus dem Darm von *Callipepla squamata* Viz., Mexiko, wie die folgenden Arten aus dem Senckenbergischen Museum in Frankfurt a. M.

Die Cuticula ist in Abständen von 0,016 mm quergeringelt; am Kopfende stehen 3 halbkugelförmige Lippen, von denen die dorsale 2, die beiden anderen je 1 Papille tragen; der Oesophagus ist kurz und nimmt beim Männchen  $\frac{1}{12}$ , beim Weibchen  $\frac{1}{16}$  der Gesamtlänge ein; das Schwanzende ist bei beiden Geschlechtern zugespitzt; das Männchen ist 27 mm lang und 0,88 mm breit; das Schwanzende macht  $\frac{1}{70}$  der ganzen Länge aus; die Bursa ist herzförmig, jederseits stehen 3 prä- und 5 postanale Papillen, die beiden vorderen jederseits neben einem runden Saugnapf; die Cirren sind ungleich, der rechte ist 2,06, der linke 2,37 mm lang. Das Weibchen hat eine Länge von 42 mm und eine Breite von 1,11 mm; das Schwanzende ist  $\frac{1}{35}$  der Gesamtlänge groß; die Vulva liegt etwas vor der Mitte und teilt den Körper im Ver-

**Tafelerklärung.**

- Fig. 1. *Heterakis cordata*, männliches Schwanzende.  
 Fig. 2. *Heterakis paradoxa*, männliches Schwanzende.  
 Fig. 3—4. *Cloacina octodactyla*, 3 männliches Schwanzende, 4 weibliches von rechts.  
 Fig. 5. *Proleptus tortus*, männliches Schwanzende.  
 Fig. 6. *Ascaris obtusocaudata*, Dorsallippe.

Nachdruck verboten.

## Weitere Untersuchungen über den Mechanismus der Agglutination und Präzipitation.

### II. Teil.

[Aus dem k. k. hygienischen Institut der Jagellonischen Universität Krakau.  
Vorstand Prof. O. Bujwid.]

Von Dr. **Philipp Eisenberg**, Assistenten am Institut.

(Fortsetzung.)

Was die andere Annahme anbelangt, daß in demselben Volumen dieselbe Bakterienmenge in verschiedenen Medien eine verschiedene Rezeptorenmenge enthält, so findet dieselbe im Experiment keine Bestätigung. Es wurden nämlich gleiche Mengen der drei in der Tab. LX verwendeten Flüssigkeiten zu verschiedenen Serumengen zugesetzt und nach eingetretener Agglutination die oberen Flüssigkeiten auf ihren Agglutiningehalt geprüft, um die Menge des durch die drei Flüssigkeiten absorbierten Agglutinins zu bestimmen. Diese Menge hat sich in allen drei Reihen als fast gleich erwiesen, woraus folgt, daß die Konzentration der Agglutininrezeptoren in allen drei Medien die gleiche sein dürfte. Es bliebe nur noch eine ziemlich wahrscheinliche Annahme: aus den Untersuchungen von Neisser und Shiga, Kraus und v. Pirquet, Buxton und Vaughan, Dreyer und Jex-Blake sowie aus meinen eigenen Versuchen ist bekannt, daß in Kulturen verschiedener Bakterienarten unter gewissen Umständen ein Teil der Rezeptoren von den Zellen abgespalten wird, die in Form von „freien Rezeptoren“ ihre Bindungsfähigkeit für Agglutinine und bakterizide Immunkörper beibehalten. Nach Neisser und Shiga sowie Buxton und Vaughan geht diese Abspaltung am reichlichsten bei erhöhter Temperatur vor sich, jedoch zeigt die Bindungsfähigkeit von Filtraten unerhitzter Kulturen, daß auch ohne Erhitzen in flüssigen Medien solche Rezeptoren frei werden können. Aus den Versuchen von Neisser und Shiga folgt, daß solche freie Rezeptoren eine größere Affinität für das Agglutinin an den Tag legen als die an den Bakterien feststehenden, denn sie hemmen die Agglutination, wenn dem Agglutinin die Wahl zwischen Bakterien und ihnen gelassen wird, und sie verringern Hemmungszonen oder lassen sie verschwinden, indem sie dank ihrer höheren Affinität Proagglutinoide binden und sie auf diese Weise von den Bakterien ablenken. Ich selbst konnte dasselbe Verhalten an der oberen bakterienfreien (durch spontane Sedimentierung) Flüssigkeit einer alten Typhusbouillonkultur feststellen; in diesem Versuch (Tab. LXI) wurde eine Agarkultur einerseits in physiologischer Kochsalzlösung.

Fig. 1.

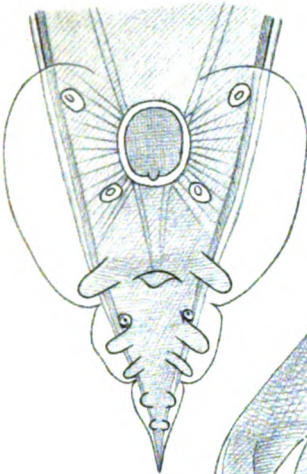


Fig. 3.

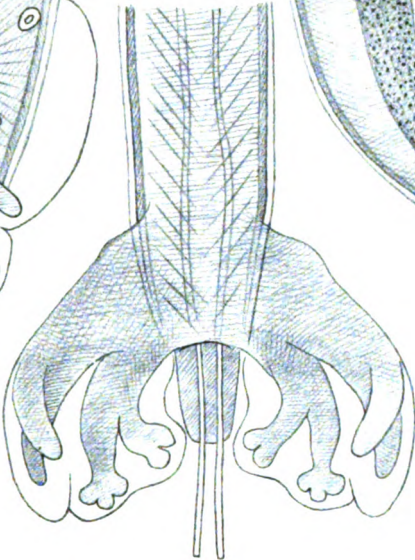


Fig. 4.

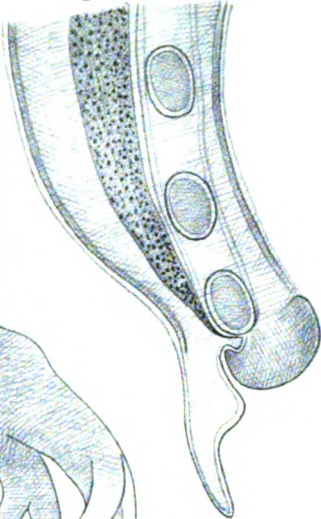


Fig. 2.

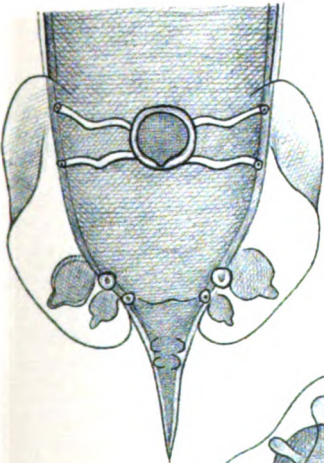


Fig. 5.

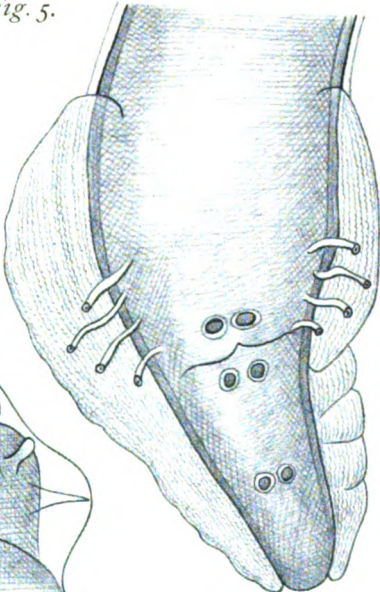
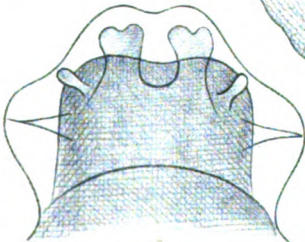


Fig. 6.







andererseits in dieser Flüssigkeit (natürlich bis zu gleicher Trübung) aufgeschwemmt. Während in der ersten Reihe eine deutliche Hemmungszone sichtbar ist, ist sie in der zweiten kaum angedeutet und außerdem bleibt hier in den tiefsten Verdünnungen die Agglutination aus, so daß der Serumwert in dieser Reihe 4mal kleiner erscheint, als in der ersten (7680 Ag.-E. gegen 30720 Ag.-E.). Ich hielt es für angezeigt, zu diesem Versuche die unfiltrierte obere Flüssigkeit zu verwenden, da ein Teil der freien Rezeptoren (Geißeln nach Gino de Rossi?) wahrscheinlich vom Filter zurückgehalten wird; diese Flüssigkeit kann höchstens vereinzelte abgestorbene Bakterienindividuen enthalten, die auf das Resultat dieses Versuchs wohl keinen Einfluß üben können.

Tabelle LXI. (Prot. No. 235. 27. April 1905.)

Ser. vom Pf. No. 11 1904 +  $\frac{1}{4}$  N. ae nach 2 Std. neutralisiert. Agar-aufschw. von R. typhi Z in physiol. NaCl resp. in der bakterienfreien oberen Flüssigkeit der Typhusbouillonkultur vom 29. Jan. 1904. Resultat nach 2 Std. (50°), 24 Std. (Z.-T.)

Ser.-Verd.	Aufschw. in phys. NaCl		Aufschw. i. d. ob. Flüss.	
$\frac{1}{60}$	k.	k.	st. Fl.	u. v. +
$\frac{1}{120}$	k.	k.	st. Fl.	f. v.
$\frac{1}{240}$	k.	Sp.??	st. Fl.	v.
$\frac{1}{480}$	k.	Sp.	st. Fl.	v.
$\frac{1}{960}$	st. Fl.	v.	st. Fl.	v.
$\frac{1}{1920}$	st. Fl.	v.	st. Fl.	v.
$\frac{1}{3840}$	st. Fl.	v.	st. Fl.	f. v.
$\frac{1}{7680}$	st. Fl.	v.	st. Fl.	u. v. +
$\frac{1}{15360}$	st. Fl.	v.	st. Fl.	st. Sp.
$\frac{1}{30720}$	st. Fl.	f. v.	k.	k.
$\frac{1}{61440}$	Fl.	st. Sp.	k.	k.
C	k.	k.	k.	k.

Auf Grund dieser Versuche könnte man annehmen, daß in einer Agar-aufschwemmung und in einer Bouillonkultur bei gleichem Trübungsgrad zwar dieselbe Rezeptorenmenge enthalten ist, aber in verschiedener Verteilung: In der Agar-aufschwemmung vorzugsweise an den Bakterien festsitzend, in der Bouillonkultur dagegen zum Teil an den Bakterien, zum Teil als freie Rezeptoren. Diese Annahme könnte, wenn weitere Untersuchungen sie bestätigen würden, das oben dargestellte verschiedene Verhalten der Bakterien in beiden Medien erklären. Bemerkt sei noch, daß in einem Versuch Typhusbakterien, die in Martinscher und Spronckscher Bouillon gezüchtet waren, keinen Unterschied aufwiesen gegenüber einer Agar-aufschwemmung.

Ein etwas abweichendes Resultat gab ein mit Choleravibrien angestellter Versuch; hier wurde das Verhalten von Kulturen in gewöhnlicher Bouillon sowie in Bouillon nach Martin und Spronck, weiter von Agar-aufschwemmungen in physiologischer Kochsalzlösung, in Bouillon nach Spronck und Martin und in gewöhnlicher Bouillon festgestellt. Alle Medien wurden, wie gewöhnlich, auf den gleichen Trübungsgrad gebracht. Wir sehen aus diesem Versuch (Tab. LXII), daß die Agar-aufschwemmung in Kochsalz eine starke Hemmung zeigt, daß dagegen die Bouillonkulturen sowie die entsprechenden Aufschwemmungen in Bouillon übereinstimmend nur eine schwache Hemmung zeigen, wobei die Unterschiede zwischen Bouillonkultur und entsprechender Aufschwemmung recht gering sind. Dieses Resultat muß nun nicht ohne

Tabelle LXII. (Prot. No. 246. 6. Mai 1905.)

Choleraserum v. Pf. No. 44. 3. Mai 1905 + HCl  $\frac{1}{2}$  N. ää. V. Cholera as. St. Eliza-  
wetpol eintägige Kulturen in gew. Bouillon, in Bouillon nach Martin u. Spronck,  
Aufschwemmungen von eintägiger Agarkultur in phys. Kochsalz, sowie in den drei  
Bouillonarten, alles auf gleichen Trübungsgrad gebracht. Resultat nach 2 Std. (50°);  
4 Std. (50°), 24 Std. (Z.-T.).

Ser.- Verd.	1-tägige Bouillon- kultur			Agaraufschw. in gew. Bouillon			1-tägige Kultur in Martins Bouillon			Agaraufschw. in Martins Bouillon		
$\frac{1}{10}$	Sp.?	st. Sp.	st. Sp.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	st. Fl.	st. Sp.	st. Sp.
$\frac{1}{20}$	u. v.?	u. v.	u. v. +	u. v.?	u. v.	u. v. +	k.	k.	st. Sp.	st. Fl.	st. Sp.	f. v.
$\frac{1}{40}$	f. v.	v.	v.	f. v.	v.	v.	f. Fl.	Fl.	u. v. +	Fl.	st. Sp.	v.
$\frac{1}{80}$	f. v.	v.	v.	f. v.	v.	v.	Fl.	st. Sp.	v.	Fl.	st. Sp.	v.
$\frac{1}{160}$	st. Fl.	u. v.	f. v.	st. Fl.	u. v.?	f. v.	Fl.	st. Sp.	f. v.	Fl.	st. Sp.	v.
$\frac{1}{320}$	f. Fl.?	Sp.?	st. Sp.	f. Fl.	Fl.	st. Sp.	f. Fl.	st. Sp.	u. v. +	f. Fl.	Fl.	st. Sp.
$\frac{1}{640}$	k.	k.	k.	k.	k.	Sp.	f. Fl.?	f. Fl.	st. Sp.	k.	k.	Sp.
$\frac{1}{1280}$	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
C	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.

Ser.- Verd.	1-tägige Kultur in Sproncks Bouillon			Agaraufschw. in Sproncks Bouillon			Agaraufschw. in phys. NaCl		
$\frac{1}{10}$	k.	k.	k.	k.	u. v.?	u. v.	k.	k.	k.
$\frac{1}{20}$	k.	k.	st. Sp.	u. v.	u. v. +	f. v.	k.	k.	k.
$\frac{1}{40}$	Fl.	st. Sp.	f. v.	u. v.	u. v. +	f. v.	k.	k.	k.
$\frac{1}{80}$	f. Fl.	Fl.	v.	st. Sp.	u. v.	f. v.	k.	k.	k.
$\frac{1}{160}$	f. Fl.	Fl.	v.	st. Sp.	u. v.	f. v.	k.	k.	k.
$\frac{1}{320}$	f. Fl.?	f. Fl.	u. v. +	k.	Sp.?	st. Sp.	Fl.	u. v.?	u. v. +
$\frac{1}{640}$	k.	k.	Sp.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
$\frac{1}{1280}$	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
C	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.

weiteres als Widerlegung der oben ausgesprochenen Annahme gelten, daß das Medium an sich von geringer Bedeutung ist; es läßt sich nämlich nicht ausschließen, daß manche Bakterienarten sehr schnell, also z. B. in der kurzen Zeit zwischen Herstellung der Aufschwemmung und Anstellung der Probe, die freien Rezeptoren abspalten können, während das in physiologischer Kochsalzlösung nicht stattfindet. Jedenfalls sind noch weitere und eingehendere Untersuchungen zur Klarstellung dieser Frage erforderlich. Endlich darf noch ein Faktor bei Besprechung der Agglutinationshemmung nicht unerwähnt gelassen werden. In fast jeder Agglutinationsreihe, die eine Hemmung aufweist, kann man im Verlaufe der Zeit eine Verkürzung der Hemmungszone beobachten, so daß selbst Proben, die noch nach 24 Stunden keine Agglutination aufweisen, zuweilen nach 48 Stunden positiv werden. Diese Tatsache ist schon von Eisenberg und Volk beobachtet (nicht publiziert) worden und in meinen Versuchsprotokollen tritt sie oft sehr deutlich hervor (z. B. Tab. XXVI, XXXVII, XLIV, XLVII, LVII). Es ist nicht leicht, diese Erscheinung zu erklären; es kann sich wohl nicht um geringe Mengen von freiem Agglutinin handeln, die so langsam ihre Wirkung äußern, denn unter gewöhnlichen Umständen werden so verspätete Reaktionen selbst bei sehr geringen Agglutininmengen nicht beobachtet. Wir haben es hier entweder mit einer sekundären Umlagerung des Systems zu tun, wobei das Agglutinin zu den Bakterien Zutritt bekommt, oder mit dem Aufhören irgend einer Hemmung (?) oder endlich mit einer Verlangsamung der Agglutinationsreaktion unter dem Einfluß des inaktivierten Serums.

Dieser letzteren Anschauung sowie der Kritik der Proagglutinoidtheorie, wie sie von Dreyer und Jex-Blake ausgeführt wurde, möchte ich nun einige Bemerkungen widmen. Gegen die Proagglutinoidtheorie erheben diese Forscher folgende Einwände: 1) Beim Erhitzen von Agglutininseris wächst die Ausdehnung der Hemmungszone nicht entsprechend der Temperaturhöhe. Wir haben nun oben gesehen, daß beim Erhitzen wohl allmählich Agglutinine zu Proagglutinoiden umgewandelt werden, daß aber gleichzeitig die schon gebildeten Proagglutinoide in Syn- und Epagglutinoide übergehen resp. ihre Affinität zu den Bakterienrezeptoren ganz einbüßen können, wodurch die erwähnte, in manchen Fällen auftretende Disproportionalität eine genügende Erklärung findet. 2) Eine Hemmungszone kann nicht nur durch Umwandlung des agglutinierenden Serums, sondern auch nach Einwirkung unveränderten Serums auf erhitze Bakterien erreicht werden. Dieser Tatsache bin ich bei meinen Untersuchungen zu wiederholten Malen begegnet, doch muß ich bemerken, daß das betreffende Serum immer auch unerhitzten Bakterien gegenüber eine, wenn auch schwach angedeutete, Hemmungszone zeigte (Tab. LXIII).

Tabelle LXIII. (Prot. No. 254. 26. Mai 1905.)

Choleraserum v. Pf. No. 44. 8. Mai 1905. Agarauflschw. v. *V. cholerae* St. Elizawedpol.  
Resultat nach 2 Std. (50°), 6 Std. (Z.-T.), 24 Std. (Z.-T.).

Ser.-Verd.	Aufschw. nicht erhitzt			Aufschw. erh. 1 Std. auf 85° C		
$\frac{1}{2}$	st. Sp.	u. v. +	f. v.	k.	k.	Sp.
$\frac{1}{5}$	st. Sp.	u. v. +	v.	k.	k.	Sp.
$\frac{1}{10}$	u. v. +	f. v.	v.	k.	k.	u. v.?
$\frac{1}{20}$	f. v.	v.	v.	k.	Sp.	u. v. +
$\frac{1}{40}$	f. v.	v.	v.	k.	st. Sp.	f. v.
$\frac{1}{80}$	v.	v.	v.	k.	st. Sp.	f. v.
$\frac{1}{160}$	f. v.	v.	v.	k.	Sp.	f. v.
$\frac{1}{320}$	f. v.	v.	v.	k.	Sp.	u. v. +
$\frac{1}{640}$	f. v.	v.	v.	k.	k.	st. Sp.
$\frac{1}{1280}$	u. v.	f. v.	f. v.	k.	k.	Sp.
$\frac{1}{2560}$	st. Sp.	u. v.	u. v. +	k.	k.	Sp.
$\frac{1}{5120}$	Sp.	Sp.	st. Sp.	k.	k.	k.
C	k.	k.	k.	k.	k.	k.

In solchen Fällen bringt natürlich die erhitze Aufschwemmung die Existenz von schon bestehenden Proagglutinoiden nur deutlicher zum Vorschein. Ueberhaupt ist es eine falsche Auffassung der Sache, wenn Dreyer und Jex-Blake zu verstehen geben, die Proagglutinoidtheorie schließe einen Einfluß der Bakterien auf den Hemmungsprozeß aus. In der Arbeit von Eisenberg und Volk sowie in meiner eigenen ist nachgewiesen worden, daß der Einfluß der Menge der agglutinierbaren (resp. präzipitablen) Substanz direkt ein Postulat dieser Theorie sein muß und es wurden sowohl dort als in der vorliegenden Arbeit zahlreiche Beweise dafür geliefert. Sodann habe ich auch wahrscheinlich gemacht, daß nicht nur die Menge der agglutinierbaren Substanz, sondern auch ihre Verteilung in der betreffenden Kultur oder Aufschwemmung für den Hemmungseffekt nicht irrelevant ist. Wenn wir das alles berücksichtigen, kommen wir zum Schluß, daß die Tatsache, daß an den Bakterien vor sich gehende Veränderungen die Hemmungszone beeinflussen, der Proagglutinoidtheorie durchaus nicht zuwiderlaufen. Welcher Art aber dieser Einfluß ist, das zu erklären, ist ebenso die Pflicht dieser

Theorie wie jeder anderen, die es unternimmt, diese Tatsachenreihe einheitlich zu deuten. 3) In der Tatsache, daß eine Hemmung Bouillonkulturen gegenüber schwächer auftritt als Agaraufschwemmungen, erblicken Dreyer und Jex-Blake ebenfalls einen Beweis gegen die Theorie. Es wird wohl genügen, darauf hinzuweisen, daß dieser Einwand wieder auf einer falschen Auffassung der Theorie beruht, wie soeben auseinandergesetzt worden, sowie dasjenige in Erinnerung zu bringen, was oben bereits darüber gesagt wurde. Die dort dafür gegebene Erklärung — wenn auch nicht die einzig mögliche — zeigt, daß sich diese Tatsache ganz gut mit der Theorie vereinigen läßt. Zu allerletzt präzisieren Dreyer und Jex-Blake mit folgenden Worten ihren Standpunkt gegenüber den Hemmungserscheinungen: „We are of the opinion that the phenomenon can be partly explained by the considerable retardation of the reaction producing agglutination.“ Formell läßt sich freilich gegen eine derartige Definition nichts einwenden mit dieser Ergänzung, daß diese herabgesetzte Reaktionsgeschwindigkeit unendlich klein, d. h. gleich Null werden kann, da ich zu wiederholten Malen nach 72–120 Stunden noch keine Reaktion eintreten sah. Aber eine derartige Definition ist rein verbal, ist höchstens nur eine Beschreibung der Erscheinung, durchaus aber keine Erklärung weder des Phänomens an sich, noch seiner komplizierten Entstehungsbedingungen. Ebenso wenig kann dazu folgende Ergänzung beitragen: „In the process of heading the immune sera or the bacterial emulsion compounds are formed which can impede agglutination of an agar-culture suspension when they are present in large amount“, wobei ich bemerken muß, daß diese Definition wörtlich auf die Proagglutinoide stimmt, deren Existenz von den Autoren bestritten wird.

In der letzten Zeit hat, dank den Arbeiten von Landsteiner und Jagič, Zangger, Biltz, Neisser, Friedemann und Bechhold, Pauli u. a. die Kolloidtheorie, die die Reaktionen zwischen Immunkörpern und ihren Antigenen auf den Kolloidzustand dieser Körper und auf seine Aenderungen zurückführen will, sich viele Anhänger erworben. Besonders sind es die Agglutinations- und Präzipitationserscheinungen, die zweifellos viele Analogieen mit Ausflockungserscheinungen darbieten, worauf ich schon in meiner Präzipitarbeit hingewiesen habe. Von vielen Autoren sind bei der Ausflockung von Kolloiden Reihen beschrieben worden, die völlig an Agglutinationsreihen mit einer Hemmungszone erinnern. Es ist nun zweifellos sehr wichtig und interessant, diese Erscheinungen einer eingehenden Analyse zu unterwerfen und speziell die Analogieen zu untersuchen, die sie mit den uns angehenden Tatsachen aufweisen. Durch solche Untersuchungen wird ganz sicher unsere Kenntnis vom Mechanismus der Agglutination und Präzipitation bedeutend erweitert und vertieft. Ob aber diese Untersuchungen im stande sein werden, das ganze Gebiet dieser Erscheinungen zu erklären und speziell ihre biologisch wichtigste Seite, die Entstehungsweise und Spezifität dieser Körper, ist zum mindesten fraglich. Es will mir scheinen, daß ähnlich, wie die osmotische Theorie die Lehre von den Bakterio- und Hämolytinen bedeutend erweitert hat, ohne alle ihre Fragen erschöpfend und allseitig beantworten zu können, auch diese Theorie nur eine Seite der uns interessierenden Fragen zu erklären berufen ist, weit davon entfernt, die oben berührten Probleme zu lösen. Ob wirklich die Agglutinations- und Präzipitationsfrage zu einem speziellen Kapitel der physikalischen Chemie wird und darin ganz ihren Platz findet, muß die

Zukunft lehren. Vorläufig muß man daran denken, daß eine Analogie noch keine vollständige Erklärung ist, und daß die Kolloidtheorie weder die Spezifität der Hemmung noch ihren Zusammenhang mit dem Erhitzen der Sera zu erklären im stande ist.

Bei dieser Gelegenheit möchte ich die paradoxen Reihen erwähnen, die zuerst von Neisser und Friedemann beim Ausflocken von Mastixemulsion durch Salzlösungen festgestellt und sodann von Dreyer und Jex-Blake bei der Agglutination von *B. coli* durch verschiedene Säuren wiedergefunden wurden. Ich selbst konnte sie ebenfalls bei der Einwirkung von Salzsäure und Phosphorsäure auf Typhusbakterien beobachten (Tab. LXVI).

Tabelle LXIV. (Prot. No. 310. 11. Juli 1905.)

Konz. HCl. Agarauflschw. von *B. typhi* Z in physiol. NaCl

Verd. v. HCl	Resultat nach 1 Std. (Z.-T.)	Resultat nach 20 Std. (Z.-T.)	Verd. v. HCl	Resultat nach 1 Std. (Z.-T.)	Resultat nach 20 Std. (Z.-T.)
$\frac{1}{2}$	k.	k.	$\frac{1}{400}$	f. v.	f. v.
$\frac{1}{4}$	k.	u. v.	$\frac{1}{800}$	f. v.	v.
$\frac{1}{10}$	k.	st. Sp.	$\frac{1}{1600}$	f. v.	v.
$\frac{1}{20}$	k.	k.	$\frac{1}{4000}$	k.	Sp.
$\frac{1}{40}$	k.	Sp.	$\frac{1}{8000}$	k.	k.
$\frac{1}{80}$	k.	st. Sp.	C	k.	k.
$\frac{1}{200}$	Sp.	u. v.			

Außerdem konnte ich derartige Reihen sowohl bei Einwirkung von erhitzten Seris auf normale Bakterien als auch von unveränderten Seris auf erhitze Bakterien beobachten. Mit Rücksicht auf die Seltenheit derartiger Befunde seien die betreffenden Protokolle hier wiedergegeben:

Tabelle LXV. (Prot. No. 9a. 5. Nov. 1903.)

Typhusserum von Kan. No. 1. 27. Okt. 1903. 1 Std. auf 60–62° erh. Agarauflschw. von *B. typhi* Z.

Ser.-Verd.	Resultat nach 2 Std.	Resultat nach 24 Std.	Ser.-Verd.	Resultat nach 2 Std.	Resultat nach 24 Std.
$\frac{1}{2}$	Sp.?	st. Sp.	$\frac{1}{800}$	st. Sp.	f. v.
$\frac{1}{5}$	Sp.?	Sp.	$\frac{1}{1200}$	st. Sp.	f. v.
$\frac{1}{10}$	Sp.	Sp.	$\frac{1}{1600}$	u. v.	f. v.
$\frac{1}{100}$	k.	k.	$\frac{1}{2000}$	u. v.	u. v.
$\frac{1}{200}$	k.	k.	$\frac{1}{4000}$	Sp.	st. Sp.
$\frac{1}{400}$	f. Fl.	st. Sp.	C	k.	k.

Tabelle LXVI. (Prot. No. 262. 30. Mai 1905.)

Ruhrserum vom Pf. No. 2 1904. Agarauflschw. von *B. dysenteriae* St. Nepustil

Ser.-Verd.	Res. n. 1 Std. (50°)	3 Std. (50°)	30 Std. (Z.-T.)
$\frac{1}{2}$	Fl.	f. v.	v.
$\frac{1}{5}$	k.	u. v. +	v.
$\frac{1}{10}$	k.	st. Sp.	v.
$\frac{1}{20}$	k.	st. Sp.	v.
$\frac{1}{40}$	k.	u. v. +	v.
$\frac{1}{80}$	f. Fl.	f. v.	v.
$\frac{1}{160}$	f. Fl.	f. v.	v.
$\frac{1}{320}$	Fl.	v.	v.
$\frac{1}{640}$	k.	f. v.	v.
$\frac{1}{1280}$	k.	st. Sp.	v.
$\frac{1}{2560}$	k.	Fl.?	u. v. +
$\frac{1}{5120}$	k.	k.	st. Sp.
C	k.	k.	k.

Eine besondere Bedeutung könnte endlich für die serodiagnostische Praxis das Auftreten solcher Reihen bei der Gruber-Widalschen Reaktion erlangen, wie sie folgender Fall illustriert (Tab. LXIX), wo das Serum eines Typhuskranken auf den eigenen aus dem Blute des Pa-



Tabelle LXVII. (Prot. No. 261. 28. Mai 1905.)

Ser. vom Pf. No. 37. 15. Juni 1904 mit 0,5-proz. Karbolzusatz. Agaraufschw. von B. typhi Z. 1 Std. auf 60° erh.

Ser.-Verd.	Resultat nach				
	1 Std.	3 Std.	24 Std.	48 Std.	72 Std.
$\frac{1}{2}$	k.	f. Fl.	v.	v.	v.
$\frac{1}{5}$	k.	Fl.	v.	v.	v.
$\frac{1}{10}$	k.	Fl.	v.	v.	v.
$\frac{1}{20}$	k.	f. Fl.?	Sp.	f. v.	v.
$\frac{1}{40}$	k.	k.	k.	u. v.	u. v.
$\frac{1}{80}$	k.	k.	k.	Sp.	st. Sp.
$\frac{1}{160}$	k.	k.	k.	Sp.	st. Sp.
$\frac{1}{320}$	k.	k.	k.	Sp.	Sp.
$\frac{1}{640}$	k.	k.	k.	st. Sp.	u. v.
$\frac{1}{1280}$	k.	k.	k.	u. v.	f. v.
$\frac{1}{2560}$	k.	k.	k.	u. v.	f. v.
$\frac{1}{5120}$	k.	k.	k.	f. v.	v.
$\frac{1}{10240}$	k.	k.	k.	st. Sp.	st. Sp.
$\frac{1}{20480}$	k.	k.	k.	st. Sp.	st. Sp.
$\frac{1}{40960}$	k.	k.	k.	Sp.	Sp.
$\frac{1}{81920}$	k.	k.	k.	k.	k.
C	k.	k.	k.	k.	k.

Tabelle LXVIII. (Prot. No. 267. 31. Mai 1905.)

Ruhrserum vom Pf. No. 2 1904. B. dysenteriae St. Nepustil. Agaraufschw. 1 Std. auf 100° C erhitzt.

Ser.-Verd.	Resultat nach 3 Std. (50°)	Resultat nach 24 Std. (Z.-T.)	Ser.-Verd.	Resultat nach 3 Std. (50°)	Resultat nach 24 Std. (Z.-T.)
$\frac{1}{2}$	u. v.	v.	$\frac{1}{320}$	k.	st. Sp.
$\frac{1}{5}$	k.	f. v.	$\frac{1}{640}$	k.	st. Sp.
$\frac{1}{10}$	k.	u. v. +	$\frac{1}{1280}$	k.	st. Sp.
$\frac{1}{20}$	k.	f. v.	$\frac{1}{2560}$	k.	st. Sp.
$\frac{1}{40}$	k.	v.	$\frac{1}{5120}$	k.	Sp.
$\frac{1}{80}$	k.	st. Sp.	C	k.	k.
$\frac{1}{160}$	k.	st. Sp.			

tienten gezüchteten Stamm (zweite Generation auf Agar) einwirkte. Dieses Serum zeigte gegenüber einem Laboratoriumstamm einen Ag.-W. = 2500 Ag.-E.; der aus dem Blute gezüchtete Stamm zeigte auch sonst mit dem Serum eines anderen Typhuskranken und mit Kaninchentyphusserum geprüft ein abweichendes Verhalten (Tab. XX u. XXI).

Tabelle LXIX. (Prot. No. 23. 27. Nov. 1903.)

Serum vom Typhuskranken Król (St. Lazarus Spital, Abth. v. Prof. Pareński, M. N. 34) vom 23. Nov. 1903. Agaraufschw. v. B. typhi St. Król-Blut (zweite Gen.).

Ser.-Verd.	Resultat nach 2 Std.	Resultat nach 24 Std.	Ser.-Verd.	Resultat nach 2 Std.	Resultat nach 24 Std.
$\frac{1}{50}$	k.	Sp.?	$\frac{1}{600}$	k.	k.
$\frac{1}{100}$	k.	Sp.?	$\frac{1}{800}$	k.	st. Sp.
$\frac{1}{150}$	k.	Sp.?	$\frac{1}{1000}$	k.	st. Sp.
$\frac{1}{200}$	k.	st. Sp.	$\frac{1}{1200}$	k.	st. Sp.
$\frac{1}{250}$	k.	st. Sp.	$\frac{1}{1500}$	k.	f. v.
$\frac{1}{300}$	k.	Sp.?	C	k.	k.
$\frac{1}{400}$	k.	k.			

Endlich möchte ich noch einige sonstige Beobachtungen betreffs der Hemmung mitteilen. Bei gleichzeitiger Einwirkung von inaktiviertem und aktivem Serum habe ich bei Schweinerotlaufbakterien und Cholera-vibrionen Hemmung erzielt, wodurch die bei Typhus- und Ruhrserum erhaltenen Resultate bekräftigt werden (Tab. LXX u. LXXI).

Tabelle LXX. (Prot. No. 121. 14. Febr. 1904.)

Schweinerotlaufserum v. Pf. Szikra v. 15. Jan. 1904 (von Doz. Dr. L. Detre-Deutsch in Budapest freundlichst überlassen). B. erysip. suum, Ascitesbouillonkultur 1-tägige. Dass. Serum 1 Std. auf 60° C erh. (inaktiviert).

Gleichzeitig Tropfen				Resultat nach	
Inakt. Ser.	Aktiv. Ser.	Phys. NaCl	Kultur	3 Std.	24 Std.
1 = $\frac{1}{30}$	3 = $\frac{1}{10}$	11	15	u. v.	f. v.
1 = $\frac{1}{30}$	2 = $\frac{1}{15}$	12	15	k.	st. Sp.
1 = $\frac{1}{30}$	1 = $\frac{1}{30}$	13	15	k.	Sp.
1 = $\frac{1}{30}$	14 = $\frac{1}{60}$	0	15	k.	Sp.
1 = $\frac{1}{30}$	8 = $\frac{1}{120}$	6	15	k.	Sp.
1 = $\frac{1}{30}$	4 = $\frac{1}{295}$	10	15	k.	Sp.
1 = $\frac{1}{30}$	2 = $\frac{1}{450}$	12	15	k.	Sp.
1 = $\frac{1}{30}$	1 = $\frac{1}{900}$	13	15	k.	Sp.
1 = $\frac{1}{30}$	0	14	15	k.	Sp.
0	1 = $\frac{1}{900}$	14	15	f. v.	v.
0	0	15	15	k.	k.

Tabelle LXXI. (Prot. No. 253a. 25. Mai 1905.)

Choleraser. v. Pf. No. 44. 8. Mai 1905. Dasselbe 1 Std. auf 60° erhitzt. V. cholerae St. Elizawedpol. Verschiedene Verdünnungen des erh. Ser. + Bakterien; nach 4 Tagen zu jedem Röhrchen aktives Ser. 1 Tr. =  $\frac{1}{160}$  zugesetzt.

Erh. Ser.-Verd.	Resultat nach 4 Tg.	Resultat nach 24 Std.
$\frac{1}{5}$	k.	k.
$\frac{1}{10}$	k.	st. Sp.
$\frac{1}{20}$	k.	u. v. +
$\frac{1}{40}$	k.	f. v.
$\frac{1}{80}$	k.	f. v.
$\frac{1}{160}$	k.	v.
$\frac{1}{320}$	k.	v.
$\frac{1}{640}$	k.	v.
$\frac{1}{1280}$	k.	v.
$\frac{1}{2560}$	k.	v.
C	akt. Ser. 1 Tr. = $\frac{1}{160}$	v.
	+	v.

Weiter möchte ich auf eine mehrmals gemachte Beobachtung hinweisen, daß die Hemmung nicht nur die spezifische Agglutination betreffen kann, sondern auch die durch Sedimentation hervorgerufene Pseudoagglutination. Der in Tab. LXXII wiedergegebene Versuch betrifft Heubacillen, deren Agaraufschwemmungen immer nach dem Verlaufe von 1 bis mehreren Stunden spontane Agglutination zeigen, sowie das Serum eines gegen die Bacillen immunisierten Kaninchens, das, wie wir oben gesehen haben, sehr oft eine Hemmungszone aufweist.

Tabelle LXXII. (Prot. No. 225. 18. April 1905.)

Kan.-Ser. b. 1. März 1904. Agaraufsch. v. B. subtilis St. PS II.

Ser.-Verd.	Resultat nach 30 Min.	Resultat nach 1 Std.	Resultat nach 2 Std.
$\frac{1}{10}$	k.	k.	Fl.
$\frac{1}{20}$	k.	k.	Fl.
$\frac{1}{40}$	k.	k.	Fl.
$\frac{1}{80}$	k.	Fl.	u. v.
$\frac{1}{160}$	Fl.?	st. Sp.	u. v. +
$\frac{1}{320}$	Fl.	st. Sp.	u. v. +
$\frac{1}{640}$	st. Fl.	u. v.	f. v.
$\frac{1}{1280}$	st. Fl.	u. v. +	f. v.
C	st. Fl.	u. v.	f. v.

Endlich sei noch ein für menschliches Eiweiß spezifisches Kaninchen-serum erwähnt, das, seit einem Jahr ohne Kautelen aufbewahrt, sich mit Fäulnisbakterien verunreinigt erwies. Dieses Serum war vollkommen



inaktiv, während eine steril aufbewahrte Probe von demselben Serum einen Präzipitinwert von 160 Pr.-E. (Präzipitineinheiten) aufwies. Der Zusatz von aktivem Serum zu den Proben, in denen Niederschlagsbildung ausgeblieben war, zeigte eine deutliche Hemmung der Präzipitation durch Propräzipitoide, in die das Präzipitin des verfaulten Serums übergegangen war (Tab. LXXIII).

Tabelle LXXIII. (Prot. No. 216a. 10. April 1905.)

Ser. v. Kan. b, d. 29. Jan. 1904 rein. Dasselbe verfault. Ascitesflüssigkeit v. 29. Dez. 1904.

Tropfen			Resultat n.		7/10 + Aktiv. Ser. Tr. 2 =	Resultat n.		
Verfault. Ser.	Phys. NaCl	Ascitesflüssigk.	24 Std.			4 Std. (50°)	24 Std. (Z. T.)	48 Std. (Z. T.)
39	0	1	k.			k.	k.	k.
20	19	1	k.			k.	k.	k.
10	29	1	k.			k.	k.	k.
4	35	1	k.			k.	Sp.??	Sp.?
2	37	1	k.			Sp. N.	Sp. N.	Sp. N.
1	38	1	k.			Sp. N.	Sp. N.	Sp. N.
0	39	1	k.			Nied.	Nied.	Nied.

Wenn ich nun alles bisher Gesagte zusammenfassend und überblickend meine Ansicht über die Proagglutinoïdtheorie äußern soll, so muß ich sagen, daß ich weit davon entfernt bin, sie für unbedingt wahr zu halten. Wenn ich bei der Darstellung meiner Versuchsergebnisse mich auf den Standpunkt dieser Theorie gestellt und ihre Benennungen verwendet habe, so geschah dies deshalb, weil sie mir vorläufig als am besten begründet erscheint und weil sie zu vielen von diesen Versuchen Anlaß gegeben und ihre Richtung vorgezeichnet hat. Andererseits aber habe ich es nicht unterlassen, auf die Tatsachen hinzuweisen, die diese Theorie vorderhand nicht zu erklären vermag und deren Erklärung sie sich wird nicht entziehen können, wenn sie sich behaupten will. Nicht als endgültige Fassung einer Reihe von Erscheinungen, sondern lediglich als Orientierungsversuch auf einem noch dunklen Gebiet ist sie daher zu betrachten und zu beurteilen, und wie auch das Urteil lauten mag, das weitere Untersuchungen über sie fallen werden, werden sie nicht bestreiten können, daß sie bei der Erforschung der Hemmungserscheinungen manche Dienste geleistet und ihre Rolle als ein Instrument zum Auffinden der Wahrheit erfüllt hat. Es ist möglich, daß weitere Untersuchungen über analoge Erscheinungen auf dem Gebiete der Häm- und Bakteriolyse, über Lysinoide (Volk und Lipschütz, Centanni) und Fermentoide (Morgenroth und Korschun, Schwarz) sowie physikalisch-chemische Studien über Kolloide diese Fragen einer endgültigen Lösung näherbringen werden.

#### 4. Ueber die Wirkung von Säuren, Alkalien und Eosin auf das Agglutinin.

Eisenberg und Volk haben nachgewiesen, daß unter manchen Umständen der Zusatz von Säuren und Alkalien zu agglutinierenden Seris ihren Wert herabsetzt und das Auftreten einer Hemmungszone zur Folge hat. In den gegenwärtig mitzuteilenden Versuchen wurde festzustellen gesucht, ob die dabei auftretenden Veränderungen reversibel sind und, wenn dies der Fall wäre, unter welchen Bedingungen. Als Ausgangspunkt für diese Versuche diente die Beobachtung, daß normales

Pferdeserum, das durch Säurezusatz stark abgeschwächt war, durch Neutralisierung reaktiviert wurde.

Tabelle LXXIV. (Prot. No. 5a, b. 7. Jan. 1902.)

## A.

Norm. Pferdeser. X. 5 ccm + 1 ccm  $H_2SO_4$   $\frac{1}{2}$  N; stark saure Reaktion. Dasselbe mit  $Na_2CO_3$   $\frac{1}{2}$  N neutralisiert bis zum Auftreten schwach alkalischer Reaktion nach Ablauf von 15 Min. und 14 Std. V. cholerae St. Z. Resultat n. 2 Std. u. 24 Stdn.

Ser.-Verd.	angesäuert. Ser.		Ser. neutralisiert n.			
			15 Min.	14 Std.		
$\frac{1}{8}$	st. Sp.	u. v.	f. v.	f. v.	—	—
$\frac{1}{5}$	Sp.	Sp.	f. v.	f. v.	—	—
$\frac{1}{6}$	k.	schw. Sp.	f. v.	f. v.	f. v.	f. v.
$\frac{1}{10}$	k.	k.	f. v.	f. v.	f. v.	f. v.
C	k.	k.	—	—	—	—

## B.

Dieselbe Versuchsanordnung mit norm. Pferdeser. No. 17.

Ser.-Verd.	angesäuert. Ser.		Ser. neutralisiert n.			
			15 Min.	14 Std.		
$\frac{1}{3}$	u. v.	f. v.	f. v.	f. v.	—	—
$\frac{1}{5}$	st. Sp.	u. v.	f. v.	f. v.	—	—
$\frac{1}{6}$	Sp.	Sp.	f. v.	f. v.	—	—
$\frac{1}{10}$	k.	schw. Sp.	f. v.	f. v.	f. v.	f. v.
$\frac{1}{12}$	k.	k.	f. v.	f. v.	f. v.	f. v.
$\frac{1}{15}$	k.	k.	f. v.	f. v.	f. v.	f. v.
C	k.	k.	—	—	—	—

## C.

Dasselbe Ser. No. 17, stärker angesäuert. 5 ccm Ser. + 2,5 ccm  $H_2SO_4$   $\frac{1}{2}$  N. Dasselbe nach 15 Min. neutralisiert.

Ser.-Verd.	angesäuert. Ser.		neutralis. Ser.	
$\frac{1}{3}$	k.	k.	u. v.	f. v.
$\frac{1}{5}$	k.	k.	u. v.	f. v.
$\frac{1}{6}$	k.	k.	u. v.	f. v.
$\frac{1}{10}$	k.	k.	u. v.	f. v.
$\frac{1}{12}$	k.	k.	u. v.	u. v.
$\frac{1}{15}$	k.	k.	Sp.	st. Sp.
C	k.	k.	k.	k.

Weitere Versuche befaßten sich mit spezifischen Typhusagglutininen; zu einer bestimmten Menge Serum wurde eine Säure, und zwar meistens HCl, zugesetzt und nach Ablauf verschiedener Zeit wurde mit NaOH neutralisiert. Der Neutralpunkt ist dabei nicht leicht zu erfassen wegen der Verbindung, die die Säure mit dem Eiweiß eingeht, und es entsteht oft eine Opaleszenz oder ein Niederschlag. Als Kontrolle diente eine ebenfalls angesäuerte, aber nicht neutralisierte Probe und außerdem das aktive Serum mit entsprechendem Zusatz von destilliertem Wasser. Man konnte sich auf diese Weise überzeugen, ob die im Serum auftretenden Veränderungen progressiver Natur sind und inwieweit sie reversibel sind. Aus dem Vergleich der Resultate mit angesäuertem und mit neutralisiertem Serum geht hervor, daß diese Veränderungen zum Teil reversibel sind (Tab. LXXV), aus dem Vergleich der nach verschiedener Zeit neutralisierten Proben dagegen, daß die Reversibilität mit der Zeit etwas zurückgeht. Das Resultat dieser Versuche ist jedoch inkonstant, speziell sofern es die Reversibilität betrifft; einem zweiten Versuch, der unter ähnlichen Bedingungen angestellt wurde (Tab. LXXXVI), ist nur die Tatsache zu entnehmen, daß die Veränderung mit der Zeit sich steigert, dagegen scheint die Neutralisation nur dann von Erfolg begleitet zu sein, wenn sie nach 10 Minuten vorgenommen wird. Bei

Tabelle LXXV. (Prot. 1 ccm Ser. Pf. No. 11 1904 + 1 ccm HCl  $\frac{1}{2}$  N nach verschiedener Zeit mit NaOH  $\frac{1}{2}$  N

Ser. Verd.	Das Serum neutra							
	5 Min. schw. Opal.		30 Min. st. Opal. Nied.		1 Std. schw. Opal. f. Nied.		2 Std. st. Opal. Nied.	
$\frac{1}{10}$	—	—	—	—	—	—	—	—
$\frac{1}{20}$	—	—	—	—	k.	—	—	—
$\frac{1}{40}$	—	—	—	—	k.	—	—	—
$\frac{1}{80}$	k.	—	—	—	k.	—	—	—
$\frac{1}{160}$	k.	—	f. v.	f. v.	k.	—	f. v.	v.
$\frac{1}{320}$	u. v.	u. v. +	v.	v.	u. v.?	u. v.	v.	v.
$\frac{1}{640}$	u. v. +	f. v.	v.	v.	u. v. +	u. v. +	f. v.	v.
$\frac{1}{1280}$	f. v.	f. v.	f. v.	f. v.	f. v.	v.	f. v.	f. v.
$\frac{1}{2560}$	f. v.	v.	f. v.	v.	v.	v.	u. v. +	f. v.
$\frac{1}{5120}$	f. v.	v.	u. v. +	f. v.	v.	v.	u. v. +	u. v. +
$\frac{1}{10240}$	f. v.	v.	u. v.?	f. v.	v.	v.	st. Sp.	u. v.
$\frac{1}{20480}$	u. v. +	u. v. +	st. Sp.	u. v.?	f. v.	f. v.	Fl.	st. Sp.
$\frac{1}{40960}$	Fl.	st. Sp.	k.	Sp.?	Fl.	u. v.?	k.	Sp.??

C

Anmerkung. Die Bezeichnung — bedeutet, daß im betreffenden Röhrchen das

Tabelle LXXVI. (Prot. No. 229a. 22. April 1905.)

1 ccm Ser. Pf. No. 11 1904 + 1 ccm HCl  $\frac{1}{2}$  N in I. nicht neutralisiert nach verschiedener Einwirkungsdauer des HCl, in II. nach derselben Zeit mit NaOH neutralisiert. Als Kontrolle 1 ccm Ser. Pf. No. 11 + 1 ccm Aq. dest. Agaraufschw. v. B. typhi Z.

Resultat n. 2 Std. (50°) u. 24 Std. (Z. T.).

I.

Ser. Verd.	n. 10 Min.		n. 2 Std.		n. 5 Std.		n. 18 Std.		Ser. + Aq. dest. n. 18 Std.
$\frac{1}{80}$	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	f. v.	f. v.
$\frac{1}{160}$	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	f. v.	f. v.
$\frac{1}{320}$	k.	Sp.	k.	Sp.?	—	—	—	f. v.	v.
$\frac{1}{640}$	st. Sp.	u. v. +	st. Sp.	u. v. +	—	—	—	f. v.	v.
$\frac{1}{1280}$	u. v.	f. v.	u. v.?	u. v. +	u. v.?	st. Fl.	u. v.?	f. v.	v.
$\frac{1}{2560}$	u. v. +	f. v.	u. v.	f. v.	u. v.?	st. Fl.	u. v.?	f. v.	v.
$\frac{1}{5120}$	u. v. +	f. v.	u. v. +	f. v.	st. Sp.	Fl.?	st. Sp.	u. v. +	f. v.
$\frac{1}{10240}$	u. v. +	f. v.	u. v.	u. v. +	k.	k.	k.	u. v. +	f. v.
$\frac{1}{20480}$	u. v.?	u. v. +	st. Fl.	u. v.	k.	k.	k.	u. v.	u. v. +
$\frac{1}{40960}$	Fl.	st. Sp.	Fl.	st. Sp.	k.	k.	k.	st. Sp.	u. v.
$\frac{1}{81920}$	k.	Sp. +	k.	Sp.	k.	k.	k.	k.	st. Sp.

C

II.

Ser.-Verd.	Serum neutralisiert nach Verlauf von			
	10 Min. st. Opalesz.	2 Std. st. Opal. Nied.	5 Std. st. Opal. Nied.	18 Std. st. Opal. Nied.
$\frac{1}{80}$	k.	Sp.	st. Fl.	u. v.
$\frac{1}{160}$	k.	st. Sp.	u. v.	u. v. +
$\frac{1}{320}$	u. v.	u. v. +	u. v.	f. v.
$\frac{1}{640}$	u. v. +	f. v.	u. v. +	f. v.
$\frac{1}{1280}$	u. v. +	f. v.	u. v. +	f. v.
$\frac{1}{2560}$	f. v.	f. v.	u. v. +	f. v.
$\frac{1}{5120}$	f. v.	f. v.	u. v. +	f. v.
$\frac{1}{10240}$	f. v.	f. v.	u. v.	u. v. +
$\frac{1}{20480}$	f. v.	f. v.	Fl.	u. v.?
$\frac{1}{40960}$	u. v. +	u. v. +	k.	st. Sp.
$\frac{1}{81920}$	Fl.	u. v.	k.	Sp.

Anmerkung. Das Zeichen — bedeutet, daß im betreffenden Röhrchen das modifizierte Serum einen Niederschlag erzeugt hat.

No. 227. 19. April 1905.)

neutralisiert. Agaraufrschw. v. B. typhi Z. Resultat n. 3 Std. (50°) u. 24 Std. (Z. T.).

lisiert nach				Angesäuertes Serum nicht neutralisiert nach 17 Std.		1 Ser. + 1 Aq. dest. nach 17 Std. + 1 Aq. dest.	
4 Std. st. Opal. Nied.		17 Std. st. Opal. Nied.					
—	—	k.	—	—	—	f. v.	f. v.
—	—	k.	—	—	—	f. v.	f. v.
—	—	st. Sp.	u. v. +	—	—	f. v.	f. v.
—	—	u. v.	u. v. +	—	—	f. v.	f. v.
f. v.	f. v.	u. v. +	f. v.	—	—	v.	v.
v.	v.	u. v. +	f. v.	—	—	v.	v.
v.	v.	u. v. +	f. v.	st. Sp.	u. v.	f. v.	v.
f. v.	f. v.	u. v. +	f. v.	Fl.	st. Sp.	f. v.	f. v.
u. v. +	u. v. +	u. v. +	f. v.	k.	Sp.?	u. v. +	f. v.
u. v. +	u. v. +	u. v. +	u. v.	k.	k.	u. v. +	f. v.
st. Sp.	u. v.?	Fl.	st. Sp.	k.	k.	u. v.	u. v. +
k.	Sp.	k.	k.	k.	k.	u. v.?	u. v.
k.	k.	k.	k.	k.	k.	st. Sp.	u. v.?

veränderte Serum einen Niederschlag erzeugt hat.

Einwirkung der Säure in geringerer Konzentration als die oben verwendete (2 Teile Serum + 1 Teil HCl  $\frac{1}{4}$  N) sind die Veränderungen sehr geringfügig und macht sich auch der Einfluß der Neutralisation fast gar nicht bemerkbar. Die Mischung von 1 Teil Serum + 1 Teil HCl  $\frac{1}{2}$  N ist schon nach 10 Minuten ganz inaktiv, und Neutralisation stellt hier schon nach 10 Minuten nur mehr Spuren von Agglutination wieder her, nach 1 Stunde und 4 Stunden ist sie ganz erfolglos. Bei schwacher Konzentration der Lauge sind die Veränderungen ähnlich wie bei Säureeinwirkung mittlerer Stärke. Sie müssen ziemlich tiefgreifend sein, da nur bei Neutralisation nach 15 Minuten eine schwache Zunahme des Wertes zu bemerken ist, die bei späterer Neutralisation ganz ausbleibt (Tab. LXXVII).

Mit der Einwirkung von Säuren und Alkalien auf das Agglutinin haben sich in letzter Zeit Dreyer und Jex-Blake eingehend beschäftigt und sind dabei zu Resultaten gelangt, die teilweise von den

Tabelle LXXVII. (Prot. No. 229a. 22. April 1905.)

1 ccm Ser. v. Pf. No. 11 1904 + 1 ccm NaOH  $\frac{1}{4}$  N nach verschiedener Einwirkungszeit des NaOH. Dieselben Proben nach entsprechender Zeit mit HCl  $\frac{1}{4}$  N neutralisiert. Kontr.: 1 ccm Ser. + 1 ccm Aq. dest. Agaraufrschw. B. typhi Z. Resultat n. 2 Std. (50°) u. 24 Std. (Z. T.)

## I.

Ser.- Verd.	n. 15 Min.		n. 2 Std.		n. 9 Std.		n. 24 Std.		1 Ser. + 1 Aq. dest. n. 24 Std.	
$\frac{1}{80}$	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	f. v.	f. v.
$\frac{1}{160}$	k.	Sp.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	f. v.	f. v.
$\frac{1}{320}$	st. Fl.	u. v.?	Fl.	st. Sp.	Fl.	st. Sp.	Fl.	st. Sp.	f. v.	v.
$\frac{1}{640}$	u. v.?	u. v. +	st. Sp.	u. v. +	st. Sp.	u. v. +	st. Fl.	u. v.	f. v.	v.
$\frac{1}{1280}$	u. v. +	f. v.	st. Sp.	u. v. +	st. Sp.	u. v.	Fl.	st. Sp.	f. v.	v.
$\frac{1}{2560}$	u. v. +	f. v.	st. Sp.	u. v.?	Fl.	u. v.?	k.	Sp.	f. v.	v.
$\frac{1}{5120}$	u. v.?	u. v. +	st. Sp.	u. v.?	k.	st. Sp.	k.	Sp.?	u. v. +	f. v.
$\frac{1}{10240}$	st. Fl.	u. v. +	k.	st. Sp.	k.	Sp.?	k.	k.	u. v. +	f. v.
$\frac{1}{20480}$	st. Fl.	st. Sp.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	u. v.	u. v. +
$\frac{1}{40960}$	f. Fl.	Sp.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	st. Sp.	u. v.

C

k. k.

## II.

Ser.-Verd.	Serum neutralisiert nach Ablauf von							
	15 Min. st. Opalesz.	2 Std. st. Opalesz.	9 Std. st. Opalesz.	24 Std. st. Opalesz.	15 Min. st. Opalesz.	2 Std. st. Opalesz.	9 Std. st. Opalesz.	24 Std. st. Opalesz.
$\frac{1}{80}$	k.	k.	k.	k.	k.	Sp.?	k.	k.
$\frac{1}{160}$	k.	Sp.	k.	Sp.?	k.	st. Sp.	k.	Sp.?
$\frac{1}{320}$	Fl.	u. v.?	st. Sp.	u. v.	st. Sp.	u. v.	Fl.	st. Sp.
$\frac{1}{640}$	st. Sp.	u. v. +	st. Sp.	u. v. +	st. Sp.	u. v. +	st. Fl.	u. v.?
$\frac{1}{1280}$	u. v. +	f. v.	st. Sp.	u. v. +	st. Sp.	u. v. +	k.	st. Sp.
$\frac{1}{2560}$	u. v. +	f. v.	st. Sp.	u. v. +	st. Fl.	u. v.	k.	Sp.
$\frac{1}{5120}$	u. v. +	f. v.	st. Sp.	u. v.	k.	st. Sp.	k.	Sp.?
$\frac{1}{10240}$	u. v.	f. v.	f. Fl.	st. Sp.	k.	k.	k.	k.
$\frac{1}{20480}$	st. Fl.	u. v. +	k.	Sp.?	k.	k.	k.	k.
$\frac{1}{40960}$	Fl.	st. Sp.	k.	k.	k.	k.	k.	k.

oben dargestellten abweichen. Da aber diese Versuche zum Teil in anderen quantitativen Verhältnissen angestellt sind als die meinigen, ist eine Zusammenstellung nicht ohne weiteres zulässig. Die bei der Wirkung von angesäuerten Seris beobachteten Erscheinungen führen diese Forscher auf die Wirkung von ungebundener Säure in den betreffenden Proben zurück. Was meine Versuche anbelangt, spricht die Tatsache, daß diese Erscheinungen auch in neutralisierten Proben fortbestehen und zwar zum Teil ganz unverändert, gegen eine solche Auffassung. Diese Auffassung kann ferner, wie Dreyer und Jex-Blake selbst zugeben, keine Anwendung finden auf die Wirkung von Alkalien, die jeder agglutinativen Wirkung bar sind. Bezüglich der theoretischen Deutung dieser Vorgänge sei darauf verwiesen, was bei Besprechung der Proagglutinoidtheorie darüber gesagt worden ist.

Endlich möchte ich ganz kurz über einige Versuche berichten, die ich unter dem Einfluß der interessanten Entdeckungen über photodynamische Wirkung fluoreszierender Stoffe (Tappeiner und Jodlbauer, Dreyer) angestellt habe. In meinem Versuch wurde Pferdetypusserum mit 1 Prom. bis 1 Proz. Zusatz von Eosin in kleinen Agglutinationsröhrchen der direkten Wirkung des Sonnenlichtes ausgesetzt, wobei Röhrchen mit entsprechendem Eosinzusatz, die im Dunkeln gehalten wurden, sowie Röhrchen mit entsprechendem Zusatz von Kochsalzlösung (im Licht und im Dunkeln) als Kontrolle dienten. Aus Tab. LXXVIII ist ersichtlich, daß die Belichtung des Serums für sich allein den Serumwert unbedeutend herabsetzt, daß Eosinzusatz an sich

Tabelle LXXVIII. (Prot. No. 84. 20. März 1904.)

Proben im Dunkeln durch 9 Std. gehalten				Proben im Sonnenlicht durch 9 Std. gehalten			
I. Ser. v. Pf. No. 37. 30. Nov. 1903 — 78 Tr. Physiol. NaCl — 2 Tr.							
Ser.-Verd.	n. 24 Std.	n. 24 Std.		Ser.-Verd.	n. 24 Std.	n. 24 Std.	
$\frac{1}{200}$	v.	v.		$\frac{1}{3000}$	f. v.	f. v.	
$\frac{1}{375}$	v.	v.		$\frac{1}{5000}$	f. v.	u. v. +	
$\frac{1}{750}$	v.	v.		$\frac{1}{7500}$	u. v.	st. Sp.	
$\frac{1}{1500}$	v.	v.		$\frac{1}{10000}$	st. Sp.	Sp.	
II. Ser. v. Pf. No. 37. 30. Nov. 1903 — 78 Tr. Wässer. Eosin 4 Proz. — 2 Tr. (= 1 Prom.)							
$\frac{1}{200}$	v.	v.		$\frac{1}{3000}$	f. v.	u. v. +	
$\frac{1}{375}$	v.	v.		$\frac{1}{5000}$	u. v. +	u. v.?	
$\frac{1}{750}$	v.	v.		$\frac{1}{7500}$	u. v.?	Sp.	
$\frac{1}{1500}$	v.	v.		$\frac{1}{10000}$	st. Sp.	Sp.?	

III. Ser. v. Pf. No. 37. 30. Nov. 1903 — 72 Tr.  
Wässer. Eosin 4 Proz. — 8 Tr. (= 4 Prom.)

Ser.-Verd.	n. 24 Std.	n. 24 Std.	Ser.-Verd.	n. 24 Std.	n. 24 Std.
$\frac{1}{200}$	v.	v.	$\frac{1}{2000}$	f. v.	u. v. +
$\frac{1}{375}$	v.	v.	$\frac{1}{5000}$	u. v. +	u. v. ?
$\frac{1}{750}$	v.	v.	$\frac{1}{7500}$	st. Sp.	Sp.
$\frac{1}{1500}$	v.	v.	$\frac{1}{10000}$	Sp.	k.

IV. Ser. v. Pf. No. 37. 30. Nov. 1903 — 60 Tr.  
Wässer. Eosin 4 Proz. — 20 Tr. (= 1 Prom.)

Ser.-Verd.	n. 24 Std.	n. 24 Std.	Ser.-Verd.	n. 24 Std.	n. 24 Std.
$\frac{1}{200}$	v.	v.	$\frac{1}{2000}$	f. v.	u. v.
$\frac{1}{375}$	v.	v.	$\frac{1}{5000}$	f. v.	u. v.
$\frac{1}{750}$	v.	v.	$\frac{1}{7500}$	u. v.	st. Sp.
$\frac{1}{1500}$	v.	f. v.	$\frac{1}{10000}$	st. Sp.	Sp.

Kontrolle: S = 0. B. typhi Z Agaraufschw. — k.

Wässer. Eosin  $\frac{1}{10000}$ — $\frac{1}{250000}$  agglutiniert die Bakterien nicht.

wirkungslos ist, aber die Lichtwirkung um ein Geringes zu steigern vermag. Es zeigt sich also, daß die sensibilisierende Wirkung des Eosins dem spezifischen Agglutinin gegenüber recht unbedeutend ist, weshalb ich von einer eingehenderen Bearbeitung dieser Frage abgestanden bin. Es ist möglich, daß Normalagglutinine auch hier eine größere Empfindlichkeit zeigen würden als spezifische; dafür scheinen die Beobachtungen von H. Pfeiffer an normalen Hämagglutininen zu sprechen. Aus den Versuchen von Fleischmann geht hervor, daß Präzipitine von photodynamischen Stoffen leichter sensibilisiert werden, was mit ihrer größeren Hitzeempfindlichkeit übereinstimmt.

### III. Ueber Natur und Bau der agglutinierbaren Substanz.

#### 1. Ueber die Agglutinabilität der Bakterien.

Eine lange Reihe von Untersuchungen, die alle agglutinierbaren Bakterienarten betreffen, hat gezeigt, daß ihre Agglutinabilität eine sehr veränderliche Eigenschaft sein kann, die von verschiedenen Faktoren bestimmt wird. Sie haben gezeigt, daß sowohl verschiedene Stämme derselben Art ein und demselben Serum gegenüber eine verschiedene Agglutinierbarkeit aufweisen können, wie auch ein und derselbe Stamm unter verschiedenen Wachstumsbedingungen diese Fähigkeit in recht wechselndem Grade offenbart. Diese Erscheinung ist darauf zurückzuführen, daß entweder diverse Stämme einer Art biologisch ganz differente Individualitäten darstellen (B. coli, Proteus, Streptokokken, B. subtilis, fluoreszierende Bakterien) oder nur teilweise verwandte (Enteritistämme, Ruhrstämme, verschiedene Rassen von Tuberkelbacillen und säurefesten Stäbchen, Rotz-, Diphtheriebacillen, Pneumokokken) oder daß frisch aus dem infizierten Organismus kommende Stämme an die darin kreisenden Agglutinine angepaßt sind (Typhus, Paratyphus, B. pyocyaneus) oder endlich auf eine biologische Zustandsspezifität des betreffenden Stammes (Anaëroben). In manchen Fällen ist die Ursache dieser Variationen und ihr Zusammenhang mit gewissen Eigentümlichkeiten der agglutinierbaren Substanz nicht eruiert. Angesichts der großen Wichtigkeit dieser Frage sowohl für die praktische Serodagnostik wie für die Systematik der Bakterien war eine allseitige experimentelle Erforschung der diese Variationen bedingenden Ursachen, wie sie von Sacquépée, Dineur, Nicolle und Trénel, Defalle, Müller und vor allem von Kirstein in einer äußerst interessanten Arbeit unternommen wurde, ein Unternehmen von großer Bedeutung. Zum Ausgangspunkt meiner Versuche wurde die Angabe von Nicolle und

hypagglutinabel werden. Ein gut agglutinabler Laboratoriumsstamm (B. typhi Z.) wurde jeden oder jeden zweiten Tag von Bouillon zu Bouillon überimpft und die Kulturen in einem auf 42° C eingestellten Thermostaten gehalten. Von Zeit zu Zeit wurde die Agglutinabilität dieser Kulturen parallel mit derjenigen einer gewöhnlichen Bouillonkultur desselben Stammes geprüft. Es mußten meistens 2-tägige Kulturen (bei 42° C) verwendet werden, da 1-tägige meist zu schwach getrübt waren. Solche Kulturen zeigten tatsächlich eine sehr herabgesetzte Agglutinabilität, wenn sie mit spezifischem Serum geprüft wurden und zwar gaben sie nur bei starken Konzentrationen positive Reaktion. Diese Untersuchungen werden oft dadurch erschwert, daß in einer Reihe von Verdünnungen (auch von weiteren) schwache Agglutination erst nach Ablauf von 24 Stunden eintritt (daher die Notwendigkeit einer nicht zu kurzen Beobachtungszeit!). Andererseits neigen die weiteren bei 42° C gezüchteten Generationen zu spontaner Sedimentierung, was die Sicherheit der Beurteilung sehr einschränkt. Nach einer längeren Reihe von Generationen ändern sich überhaupt die Verhältnisse; das Wachstum ist üppiger, die Tendenz zum Sedimentieren nimmt ab, die Trénel, daß Typhusbacillen, längere Zeit hindurch bei 42° C gezüchtet,

Tabelle LXXIX. (Prot. No. 51, 80a.)

I.  
Ser. v. Pf. No. 37. 7. Okt. 1903 (Ag-  
W. = 1000 Ag.-E.). B. typhi Z.  
VI. Gener. bei 42° (Bouillon)

Ser.-Verd.	Resultat n.	
	2 Std.	24 Std.
1/2	k.	u. v.?
1/5	k.	u. v.?
1/10	k.	Sp.
1/15	k.	Sp.?
1/30	k.	f. Fl.
1/50	k.	f. Fl.
1/100	k.	f. Fl.
1/150	k.	f. Fl.
1/200	k.	f. Fl.
C	k.	k.

II.  
Ser. v. Pf. No. 37. 30. Okt. 1903 (Ag-  
W. = 15 000 Ag.-E.). B. typhi Z.  
XXVII. Gener. bei 42° (Bouillon)

Ser.-Verd.	Resultat n.	
	2 Std.	24 Std.
1/2	Fl.	u. v.
1/5	f. Fl.	f. v.
1/10	f. Fl.	u. v.?
1/15	feinste Fl.?	st. Sp.
1/30	feinste Fl.?	st. Sp.
1/50	k.	st. Sp.
1/100	k.	st. Sp.
1/150	k.	st. Sp.
1/200	k.	st. Sp.
1/300	k.	st. Sp.
1/400	k.	st. Sp.
1/500	k.	st. Sp.
1/800	k.	st. Sp.
C	k.	st. Sp.

III.  
S. Kan. b, c, c. 29. Jan. 1904 mit er-  
hitzten Kulturen v. B. typhi Z. immu-  
nisiert (Ag.-W. = 7500 Ag.-E.). B. ty-  
phi Z. LXVIII. Gener. bei 42° (Agar-  
aufschw. in phys. NaCl)

Ser.-Verd.	Resultat n.	
	2 Std.	24 Std.
1/2	Sp.	f. v.
1/5	u. v.?	f. v.
1/10	f. v.	v.
1/15	f. v.	v.
1/30	f. v.	v.
1/50	f. v.	v.
1/75	f. v.	v.
1/150	f. v.	v.
1/300	f. v.	f. v.
1/750	u. v.?	u. v.
1/1500	st. Sp.	u. v.
1/3000	Sp.	st. Sp.
C	k.	Sp. (Sedim.)

IV.  
Ser. v. Pf. No. 37. 30. Nov. 1903 (Ag-  
W. = 15 000 Ag.-E.). B. typhi Z.  
CXI. Gener. bei 42° (Agaraufschw.)

Ser.-Verd.	Resultat n.	
	1 Std. (42°)	3 Std. (42°)
1/2	k.	u. v. +
1/5	k.	st. Sp.
1/10	k.	st. Sp.
1/15	k.	Sp.
1/30	k.	st. Sp.
1/50	k.	st. Sp.
1/75	k.	Sp.
1/150	k.	st. Sp.
1/225	k.	st. Sp.
1/450	k.	st. Sp.
1/900	k.	st. Sp.
1/1500	k.	Sp.
1/2000	k.	st. Sp.
1/3000	k.	k.
C	k.	k.

in früheren Generationen verschwundene Beweglichkeit kehrt zurück — kurz die Kultur paßt sich allmählich den veränderten Existenzbedingungen an. In diesem Stadium lassen sich selbst Agarkulturen bei 42° C erzielen, die in den ersten Generationen nicht angehen wollen (Nicolle und Trénel). Diese Kulturen zeigen denn auch eine größere Agglutinabilität, wenn auch noch keine normale. Tab. LXXIX zeigt einige successive Etappen dieser Veränderung. (Schluß folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Ueber den Durchgang der hämolytischen Ambozeptoren und der Präzipitine in die Milch der aktiv immunisierten Tiere.

[Hygienisches Institut der Kgl. Universität Turin (Direktor: Prof. Dr. L. Pagliani).]

Von Privatdozent Dr. E. Bertarelli, Assistent.

In einer vorhergehenden Arbeit<sup>1)</sup> habe ich nachgeforscht, ob es möglich ist, die Säuglinge durch den Verdauungsgang aktiv und passiv zu immunisieren, besonders in Zusammenhang mit einer eventuellen Immunisation durch die Stillung selbst.

Bei Gelegenheit dieser Untersuchungen bin ich notwendigerweise auf den Durchgang der Agglutinine und der bakteriziden Stoffe in die Milch immunisierter Tiere zurückgekommen und habe dabei daran erinnert, was andere auf diesem Gebiete geleistet haben, nämlich hinsichtlich des Durchganges der Antitoxine, der Agglutinine, sowie der bakteriziden Stoffe in die Milch.

Wollte ich diesen Punkt meiner Nachforschungen vervollständigen, so lag es mir ob, zuerst einige andere Punkte biologischen und direkt auch praktischen Interesses näher ins Auge zu fassen. Mehr als ein Forscher hat behauptet, daß die Milch der einer gewissen Krankheit gegenüber immunen Mutter passiv die Immunität auch dem Säugling verleihen könne.

Diese Erscheinung ist nun zwar für die Antitoxine deutlich nachgewiesen worden, sehr ungenügend aber nur für den Durchgang der bakteriziden Antikörper.

Zum Studium dieser kleinen Frage, die das Problem der Immunisation der Säugenden angeht, war es angeraten, mit einem leicht prüf-baren Material — z. B. mit hämolytischen Ambozeptoren — nachzu-forschen, ob ein Durchgang in die Milch der immunisierten Tiere statt-findet.

Meines Wissens wurden Untersuchungen dieser Art, obgleich sie sich eigentlich von selbst bieten, bis heute nicht unternommen. Eben-sowenig gab mir die Durchsicht der angrenzenden Literatur irgend etwas Derartiges.

Ich habe demnach nachgeforscht, ob es gelingt, nach aktiver Im-munisation von Frauen mit roten Blutkörperchen den Durchgang der

1) Bertarelli, E., Ueber die aktive und passive Immunisation der Neugeborenen und Säuglinge durch den Verdauungsgang. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXVIII.)

2) In der zitierten Arbeit ist ein großer Teil der das Argument angehenden Literatur gegeben. Eine vollständige Bibliographie enthält die Arbeit Römers: Die Ehrliche Seitenkettentheorie.



hämolytischen Ambozeptoren in die Milch nachzuweisen. Gleichzeitig habe ich da auch darauf gesehen, ob diese Ambozeptoren im Säugenden nachweisbar sind oder ob sie absorbiert werden und so rasch aus dem Organismus verschwinden.

Außerdem gebe ich hier auch einige Untersuchungen wieder, die von mir bereits im Jahre 1905 über ein analoges Problem gemacht worden sind und eine Antwort geben sollten auf die Frage: Passieren die Präzipitine in die Milch der Tiere, die mit präzipitogenen Substanzen behandelt worden sind? und: Werden diese Präzipitine von den Säuglingen verwertet?

Um nun ausfindig zu machen, ob die hämolytischen Ambozeptoren in die Milch der mit roten Blutkörperchen immunisierten Weibchen übergehen, hatte ich zuerst zu den Kaninchen gegriffen. Die große Schwierigkeit aber, von ihnen eine ansehnliche Quantität Milch zu erhalten, hat mich von den betreffenden Proben abgebracht.

Ich nahm nun meine Zuflucht zum Schafe. Der Versuch wurde mit einem tragenden, nicht weit vor dem Gebärrakt stehenden Schafe vorgenommen. Zur Immunisation gebrauchte ich rote Blutkörperchen von Hühnern, die in der gewöhnlichen Weise gewaschen worden sind.

Am 20. Tage gebar es 2 Lämmchen. An demselben Tage wurde es ein zweites Mal mit roten Blutkörperchen von Hennen inokuliert. Eine dritte Inokulation fand am 9. März, eine vierte am 16. März und eine fünfte am 25. März statt.

Bei den letzten Injektionen wurden jedesmal 20 ccm und 25 ccm Blut eingeführt.

Zu verschiedenen Zeiten wurde dann das Blut auf die Gegenwart von Ambozeptoren hin untersucht. Da ich dann bei einigen Proben zu Anfang gesehen hatte, daß der Gehalt der Milch an Komplementen unbedeutend ist, wurde bei Vornahme der Proben stets Komplement beigefügt, nämlich normales Kaninchenserum, das kurz zuvor erhalten worden war.

Die ersten Proben nach der dritten Blutinokulation blieben negativ. Erst nach der vierten begannen im Blute sich kleine Mengen hämolytischer Ambozeptoren zu zeigen. 4 Tage nach der letzten Injektion wurden andere Bestimmungen gemacht. Nachstehend folgen beispielsweise die Ergebnisse eines Versuches:

- 5 Tropfen Milch + Anschwemmung rot. Blutkörp. v. Hennen 1 ccm = keine Hämolyse  
 10 " " + " " " " " " " " 1 " = " "  
 10 " " + " " " " " " " " 1 " + 0,2 ccm Komplement-Serum = deutl. Hämolyse  
 5 Tropfen Milch + Anschwemmung rot. Blutkörp. v. Hennen 1 ccm + 0,2 ccm Komplement-Serum = spärli. Hämolyse  
 10 Tropfen Milch + 2 ccm Komplement-Serum = keine Hämolyse

Analoge Versuche wurden mit zwei normalen, nicht behandelten Schafmilchproben unternommen. Das Resultat ist konstant und gleichartig: In der normalen, nicht behandelten Schafmilch finden sich keine hämolytischen Ambozeptoren für die Blutkörperchen der Henne.

Dasselbe Schaf wurde am 1. April ein letztes Mal inokuliert mit 25 ccm Hennenblut, und daraufhin wurde neuerdings der Gehalt der Milch an hämolytischen Ambozeptoren ausfindig zu machen gesucht. Es war jedoch unmöglich, eine bemerkenswerte Vermehrung der Ambozeptoren nachzuweisen.

Es kann also behauptet werden, daß die hämolytischen Ambozeptoren sehr wohl in die Milch der immunisierten Schafe

übergehen, finden sich aber daselbst nur in spärlicher Menge.

Unzweifelhaft erscheint die Quantität hämolytischer Ambozeptoren sehr spärlich, wenn man sie mit derjenigen vergleicht, die sich im Serum derselben Tiere vorfindet. Bei dem von mir immunisierten Schafe habe ich eine Probe mit einer kleinen Menge vermittelt eines kleinen oberflächlichen Einschnittes ins Ohr erhaltenen Serums gemacht, wobei ich mit 0,1 ccm Serum 1 ccm einer Anschwemmung von roten Blutkörperchen der Henne hämolysierte.

Nachdem ich nun einmal gesehen hatte, daß sich im Blute des Schafes hämolytische Ambozeptoren fanden, ergab es sich ganz von selbst, daß ich mich fragte, wie diese Ambozeptoren von den Säuglingen verwertet werden. Passieren sie so, wie sie sind, die Blutbahn? oder erzeugen sie ihrerseits wieder Ambozeptoren?

Um hierauf eine erschöpfende Antwort zu bekommen, mußte natürlich mit Säuglingen verschiedener Zeitperioden operiert werden, da es sehr leicht ist, von vornherein daran zu denken, daß mit den in die Milch eingeführten hämolytischen Ambozeptoren dasselbe eintrete, was ich bei anderen Antikörpern wahrgenommen habe, daß nämlich in den allerersten Lebensperioden die Absorption der Antikörper von seiten des Darmes ebenso vor sich geht, während dies späterhin nicht mehr der Fall ist.

Da ich nun nur 2 Lämmchen zur Verfügung hatte, beschränkte ich mich darauf, die Probe 10 resp. 20 Tage nach ihrer Geburt zu machen.

Das Ergebnis war null. Es gelang mir nicht, Ambozeptoren im Serum nachzuweisen. Zweifelnd, ob vielleicht daselbst Antiambozeptoren existieren könnten, die, von den Ambozeptoren erzeugt, nur mit der Milch eingeführt worden sein konnten, habe ich mit den gewohnten Methoden Prüfungen angestellt, deren Zweck es war, zu zeigen, ob in diesem Serum Antiambozeptoren existierten; doch auch hierbei war das Ergebnis negativ.

Es konnte also irgendwelche Verwertung dieser Ambozeptoren von seiten des Säuglings nicht nachgewiesen werden, was seine Berechtigung wohl darin finden kann, daß die Milch eine sehr spärliche Menge Ambozeptoren enthielt.

Eine Frage, die derjenigen nach dem Durchgang der hämolytischen Ambozeptoren ins Blut analog ist, kann man auch betreffs der Präzipitine stellen, indem man sich fragt: Passieren, wenn man einem stillenden Weibchen ein Material injiziert, das im stande ist, Präzipitine zu erzeugen, diese letzteren das Blut?

Die betreffende Untersuchung bietet aber eine Schwierigkeit, und zwar die, daß die Milch wegen ihrer Komposition und ihrer Farbe sich nicht ohne weiteres zu den Proben eignete. Man erreicht seinen Zweck jedoch sehr gut dadurch, daß man Serum klarer Milch sich verschafft und sich zur Fällung des Kaseins des Labferments bedient.

Meine Proben kamen im Jahre 1904 und im Anfang 1905 an 2 Hündinnen zur Ausführung. Eine der Hündinnen erhielt subkutan Pferdeserum, die andere Rinderserum.

Mit der von den beiden Hündinnen angesammelten Milch (uns ist es schwierig, auch wenn man wiederholt und in verschiedenen Perioden vorgeht, einige Kubikcentimeter Milch zu erhalten) wurde ein Milchserum erhalten, das bis zur Klarheit gefiltert wurde. Mit diesem Milchserum,

dem Rinder- resp. Pferdeserum beigelegt wurde, schritt ich dann in der gewöhnlichen Weise zu den Präzipitationsversuchen. Der Kürze halber unterlasse ich es hier, die analytischen Daten des Experiments wiederzugeben. Es genüge hier, das Resultat zu erfahren. In beiden Fällen konnte man nach 5 subkutanen Injektionen von 8—10 ccm in der Milch das unzweifelhafte Vorhandensein kleiner Mengen Präzipitins nachweisen.

Kontrollprüfungen haben dargetan, daß die normale Milch diese Eigenschaft nicht besitzt und daß sie in dem Sinne spezifisch ist, den man diesem Worte in der Immunitätslehre zu geben pflegt.

Auch in diesem Falle habe ich bei 2 kleinen Hunden, deren einer von der gegen Rinder Serum immunisierten Mutter und deren anderer von der mit Pferdeserum immunisierten Mutter ernährt worden war, nach 4-wöchentlicher Stillung das Vorhandensein von Präzipitinen im Serum nachzuweisen gesucht, doch war in keinem der beiden Fälle ein positives Ergebnis zu erreichen.

---

Diese Versuche führen also den Nachweis, daß, wie bei den Agglutininen und Antitoxinen, auch bei den hämolytischen Ambozeptoren und den Präzipitinen der Durchgang in die Milch der immunisierten Tiere stattfindet.

Es ist jedoch die Menge der in die Milch übergehenden hämolytischen Ambozeptoren und Präzipitine immer sehr spärlich und verbleibt so trotz eines aktiven und intensiven Immunisationsprozesses und trotzdem, daß im Serum unzweifelhaft ungeheure Mengen von Ambozeptoren vorhanden sind.

Diese Tatsache ist den Hoffnungen gegenüber, die man hinsichtlich der passiven Immunisation der Säuglinge mit aktiv immunisierter Tiermilch hegt, beachtenswert.

Es ist immerhin unzweifelhaft, daß, wenn es gestattet wäre, aus Analogie Schlüsse zu ziehen auf dem Gebiete der antibakterischen Immunisation, so müßte man doch, wenn man von diesen mit der Immunisation vermittelst roter Blutkörperchen gemachten Erfahrungen ausgeht, sich vergegenwärtigen, daß man nicht zu viel Vertrauen haben kann in die antibakterische Wirksamkeit einer Milch, die von einem aktiv immunisierten Tiere herkommt. Zu wirklichen Schlüssen kann man für den Augenblick noch nicht gelangen. Was allein feststeht, ist, daß Präzipitine und hämolytische Ambozeptoren in die Milch in spärlicher Quantität übergehen.

Was nun die Verwertung anbelangt, die die Säuglinge mit diesen mit Immunisationsprozessen erhaltenen Materialien machen, so werde ich, nach Darlegung der erhaltenen Ergebnisse, keinerlei Schlüsse ziehen. Das spärliche Versuchsmaterial könnte uns zu irrthümlichen Ableitungen bringen, um so mehr, als es betreffs der Agglutinine scheinen wollte, als ob man eine Verwertung von seiten der Säuglinge haben kann, wenn die Agglutinine an die Milch gebunden sind.

Waren nun auch die Proben spärlich, so besagen sie doch — ohne ihre Tragweite in irgendwelcher Weise ausdehnen zu wollen — daß in jedem Falle, wenn auch beim Lamm nach 2-wöchigem Leben, bei den Hündchen nach einer gleichen Lebensperiode hämolytische Ambozeptoren und Präzipitine, mit der Milch eingeführt, in die Blutbahn gelangt sind, es doch nicht gelingt, sie daselbst nachzuweisen, wenn man unter Verhältnissen operiert, denen meine Experimente unterstanden.

*Nachdruck verboten.*

# Zur Kenntnis der Immunisierungsverhältnisse der Cholera-vibrionen.

[Aus dem Institut für Infektionskrankheiten in Berlin.]

Von Dr. G. Fichera.

(Schluß).

Kaninchenserum mit  $\frac{1}{100}$  Kultur 70, nur abgetötet hergestellt.

Tabelle 17.

70 Absättigung.

Stämme	Verdünnungen des Zentrifugenklars					Kontrolle
	1:50	1:500	1:1000	1:2000	1:5000	
70	lebt	lebt	+	+	+	s. o.
76	lebt	lebt	lebt	+	+	

Tabelle 18.

76 Absättigung.

Stämme	Verdünnungen des Zentrifugenklars					Kontrolle
	1:50	1:500	1:1000	1:2000	1:5000	
70	lebt	lebt	lebt	lebt	+	s. o.
76	lebt	+	+	+	+	

Kaninchensera mit  $\frac{1}{100}$  Kultur 70, 76, nur abgetötet hergestellt.

Tabelle 19.

Stämme	Verdünnungen des Serums					Kontrolle
	1:100	1:500	1:1000	1:2000	1:5000	
70	lebt	lebt	lebt	lebt	+	s. o.
76	lebt	lebt	lebt	+	+	

Tabelle 20.

Stämme	Verdünnungen des Serums					Kontrolle
	1:100	1:500	1:1000	1:2000	1:5000	
70	lebt	lebt	lebt	+	+	s. o.
76	lebt	lebt	lebt	+	+	

Kaninchensera mit  $\frac{1}{100}$  je Kultur abgesättigt hergestellt. (Absättigung je Kultur mit 10 ccm Pferdeserum II, 1:20.)

Tabelle 21.

Kaninchenserum BI.

Stämme	Verdünnungen des Serums					
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:1500
BI	++	++	+	+	—	—
GIV	++	++	++	—	—	—
GVI	++	++	++	—	—	—
74	++	++	+	+	—	—
76	+	+	—	—	—	—
187	++	++	+	—	—	—
363	++	++	+	+	—	—
70	++	+	+	—	—	—
Kontrolle	—	—	—	—	—	—

Tabelle 22.

Kaninchenserum GIV.

Stämme	Verdünnungen des Serums					
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:1500
BI	++	+	+	—	—	—
GIV	++	++	+	—	—	—
GVI	++	++	+	+	—	—
74	++	++	+	+	—	—
76	++	+	+	—	—	—
187	++	+	+	—	—	—
363	++	++	+	+	—	—
70	++	++	+	+	—	—
Kontrolle	—	—	—	—	—	—

Tabelle 23.  
Kaninchenserum G VI.

Stämme	Verdünnungen des Serums					
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:1500
BI	++	++	+	+	—	—
GIV	++	++	+	++	—	—
GVI	+++	++	+	+	—	—
74	+++	++	+	+	—	—
76	++	++	+	—	—	—
187	+++	++	+	+	+	—
363	+++	++	++	+	+	—
70	+++	++	++	+	+	—
Kontrolle —						

Tabelle 24.  
Kaninchenserum 74.

Stämme	Verdünnungen des Serums					
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:1500
BI	+++	++	++	+	—	—
GIV	+++	++	++	+	+	—
GVI	+++	++	++	+	+	—
74	+++	++	++	+	+	—
76	++	++	+	+	—	—
187	+++	++	+	+	—	—
363	+++	++	++	+	+	—
70	+++	++	++	+	+	—
Kontrolle —						

Kaninchenserum mit  $\frac{1}{20}$  je Kultur abgesättigt und abgetötet hergestellt.

Tabelle 25.

Kaninchenserum BI.

Stämme	Verdünnungen des Serums					
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:1500
BI	++	+	++	—	—	—
GIV	++	+	++	—	—	—
GVI	++	+	++	—	—	—
74	++	+	++	—	—	—
76	++	+	++	—	—	—
187	++	+	++	—	—	—
363	++	+	++	—	—	—
70	++	+	++	—	—	—
Kontrolle —						

Tabelle 26.

Kaninchenserum GIV.

Stämme	Verdünnungen des Serums					
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:1500
BI	++	++	+	—	—	—
GIV	++	++	+	—	—	—
GVI	++	++	+	—	—	—
74	++	++	+	—	—	—
76	++	+	—	—	—	—
187	++	+	+	—	—	—
363	++	++	+	—	—	—
70	++	++	+	—	—	—
Kontrolle —						

Tabelle 27.  
Kaninchenserum G VI.

Stämme	Verdünnungen des Serums					
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:1500
BI	++	+	—	—	—	—
GIV	++	+	++	—	—	—
GVI	+++	++	+	—	—	—
74	++	+	++	—	—	—
76	++	+	—	—	—	—
187	++	+	++	—	—	—
363	+++	++	+	+	—	—
70	+++	++	+	+	—	—
Kontrolle —						

Tabelle 28.  
Kaninchenserum 74.

Stämme	Verdünnungen des Serums					
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:1500
BI	+++	++	+	—	—	—
GVI	+++	++	+	—	—	—
GIV	++	++	+	—	—	—
74	++	++	+	++	—	—
76	+	++	—	—	—	—
187	++	+	++	—	—	—
363	++	+	++	—	—	—
70	++	+	++	—	—	—
Kontrolle —						

Kaninchensera mit  $\frac{1}{20}$  Kultur 76, 70 abgesättigt und abgetötet hergestellt.

Tabelle 29.

Kaninchenserum 76.

Stämme	Verdünnungen des Serums					
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:1500
BI	++	+	+	—	—	—
GIV	++	++	+	—	—	—
GVI	++	++	+	—	—	—
74	++	++	+	—	—	—
76	++	+	—	—	—	—
187	++	+	++	—	—	—
363	++	++	+	—	—	—
70	++	++	+	—	—	—
Kontrolle —						

Tabelle 30.

Kaninchenserum 70.

Stämme	Verdünnungen des Serums					
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:1500
BI	++	++	+	—	—	—
GIV	+++	++	+	—	—	—
GVI	+++	++	+	++	—	—
74	+++	++	+	—	—	—
76	++	++	++	—	—	—
187	++	++	++	—	—	—
363	++	++	+	++	—	—
70	++	++	+	—	—	—
Kontrolle —						

Kaninchensera mit  $\frac{1}{20}$  Kultur 70 abgesättigt und abgetötet hergestellt.

Tabelle 31.

Absättigung mit 76, Auswertung gegen alle Stämme.

Stämme	Verdünnungen des Zentrifugenklares					
	1:25	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000
BI	—	—	—	—	—	—
GIV	++	—	—	—	—	—
GVI	++	++	+	—	—	—
74	++	++	+	—	—	—
76	+	—	—	—	—	—
187	+	+	—	—	—	—
363	++	++	+	—	—	—
76	++	++	+	—	—	—
Kontrolle —						

Tabelle 32.

Absättigung mit 70, Auswertung gegen alle Stämme.

Stämme	Verdünnungen des Zentrifugenklares					
	1:25	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000
BI	+	—	—	—	—	—
GIV	++	—	—	—	—	—
GVI	++	+	++	—	—	—
74	++	+	+	—	—	—
76	+	—	—	—	—	—
187	+	—	—	—	—	—
363	++	++	—	—	—	—
70	++	++	++	—	—	—
Kontrolle —						

Kaninchensera mit  $\frac{1}{20}$  Kultur 76, 70, 3mal abgesättigt mit Pferdeserum in der Verdünnung 1:3 und abgetötet hergestellt.

Tabelle 33.

Kaninchenserum 76.

Stämme	Verdünnungen des Serums					
	1:25	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000
BI	++	++	—	—	—	—
GIV	++	++	—	—	—	—
GVI	++	++	—	—	—	—
74	++	++	—	—	—	—
76	+	++	—	—	—	—
187	+	++	—	—	—	—
363	++	+	—	—	—	—
70	++	+	—	—	—	—
Kontrolle —						

Tabelle 34.

Kaninchenserum 70.

Stämme	Verdünnungen des Serums					
	1:25	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000
BI	+	—	—	—	—	—
GIV	++	—	—	—	—	—
GVI	+	+	—	—	—	—
74	+	++	—	—	—	—
76	++	—	—	—	—	—
187	++	—	—	—	—	—
363	++	+	—	—	—	—
70	+	+	—	—	—	—
Kontrolle —						

Kaninchensera mit  $\frac{1}{20}$  Kultur 76, 70, abgetötet hergestellt.

Tabelle 35 (IX b).

Kaninchenserum 76.

Stämme	Verdünnungen des Serums					
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:1500
BI	+++	+++	++	++	+	—
GIV	+++	+++	++	++	+	—
GVI	+++	+++	++	++	+	—
74	+++	+++	++	++	+	—
76	+++	++	++	+	—	—
187	+++	+++	++	+	—	—
363	+++	+++	++	+	—	—
70	+++	+++	++	+	—	—
Kontrolle —						

Tabelle 36 (X b).

Kaninchenserum 70.

Stämme	Verdünnungen des Serums					
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:1500
BI	+++	++	++	+	+	—
GIV	+++	+++	++	+	+	—
GVI	+++	+++	++	+	+	—
74	+++	+++	++	+	+	—
76	+++	++	++	+	—	—
187	+++	+++	++	+	+	—
363	+++	+++	++	+	+	—
70	+++	+++	++	+	+	—
Kontrolle —						

Kaninchensera mit  $\frac{1}{20}$  Kultur 70, 76 nur abgetötet hergestellt.

Tabelle 37 (XV b).

Stämme	Verdünnungen des Serums					Kontrolle $\frac{1}{4}$ Oese
	1:500	1:1000	1:2000	1:5000	1:10000	
70	lebt	lebt	lebt	lebt	+	+
76	lebt	lebt	lebt	lebt	+	+

Tabelle 38 (XVI b).

Stämme	Verdünnungen des Serums					Kontrolle $\frac{1}{4}$ Oese
	1:500	1:1000	1:2000	1:5000	1:10000	
70	lebt	lebt	lebt	lebt	+	+
76	lebt	lebt	lebt	lebt	+	+

Kaninchensera mit  $\frac{1}{20}$  Kultur 70, 76 abgetötet und schwach abgesättigt hergestellt.

Tabelle 39.

Stämme	Verdünnungen des Serums					Kontrolle
	1:500	1:1000	1:2000	1:5000	1:10000	
70	lebt	lebt	lebt	+	+	s. o.
76	lebt	lebt	lebt	+	+	

Tabelle 40.

Stämme	Verdünnungen des Serums					Kontrolle
	1:500	1:1000	1:2000	1:5000	1:10000	
70	lebt	lebt	lebt	+	+	s. o.
76	lebt	lebt	+	+	+	

Kaninchensera mit  $\frac{1}{20}$  Kultur 70, 76 abgetötet und stark abgesättigt hergestellt.

Tabelle 41.

Stämme	Verdünnungen des Serums					Kontrolle
	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000	
70	lebt	lebt	lebt	+	+	s. o.
76	lebt	lebt	+	+	+	

Tabelle 42.

Stämme	Verdünnungen des Serums					Kontrolle
	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000	
70	lebt	lebt	lebt	+	+	s. o.
76	lebt	lebt	lebt	+	+	

Meerschweinchen mit  $\frac{1}{20}$  Kultur BI nur abgetötet subkutan eingespritzt.

Tabelle 43.

2 Oesen Kultur 70 intraperiton.

1 lebt      2 lebt      3 lebt

Tabelle 44.

2 Oesen Kultur 76 intraperiton.

2 lebt      2 lebt      3 lebt

Meerschweinchen mit  $\frac{1}{20}$  Kultur BI abgetötet und stark abgesättigt subkutan eingespritzt.

Tabelle 45.

1 Oese Kultur 70 intraperiton.		
1	2	3
†	†	†

Tabelle 46.

1 Oese Kultur 76 intraperiton.		
1	2	3
lebt	†	†

### Literaturverzeichnis.

- Besredka, Annales de l'Institut Pasteur. T. XVI. 1902.  
 Bordet, Annales de l'Institut Pasteur. T. XIII. 1899.  
 Buxton and Vaughan, Journal of medical research. Vol. XII.  
 Eisenberg und Volk, Zeitschr. für Hygiene und Infektionskrankh. Bd. XL.  
 Friedberger, Internation. Beiträge für innere Medizin. v. Leydens Festschrift. 1902.  
 Friedberger und Moereschi, Berlin. klin. Wochenschr. 1905.  
 —, Centralbl. f. Bakteriöl. Bd. XXXIX. 1905.  
 Hetsch, s. Kolle und Wassermann, Handb. der pathog. Mikroorgan. Jena 1904.  
 Hetsch und Lentz, Kochs Festschrift. Jena (G. Fischer) 1903.  
 Kolle, Centralbl. f. Bakteriöl. Bd. XIX. 1896.  
 —, Deutsche med. Wochenschr. Bd. XXIII. 1897.  
 —, s. Kolle und Wassermann, Handb. d. pathog. Mikroorgan. Jena 1904.  
 —, Zeitschr. für ärztl. Fortbildung. 1905.  
 Kolle, Gotschlich, Hetsch, Lentz und Otto, Zeitschr. für Hygiene und Infektionskrankh. Bd. XLIV. 1903.  
 Kolle, Hetsch und Kutscher, Klinisches Jahrbuch. Bd. XIV. 1905.  
 Joos, Centralbl. für Bakteriöl. Bd. XXXIII. 1903.  
 Meinicke, Jaffé und Flemming, Zeitschr. für Hygiene und Infektionskrankh. Bd. LII. 1906.  
 Mertens, Deutsche med. Wochenschr. 1901.  
 Müller, Vorlesungen über Infek. und Immunität. Jena (Fischer) 1904.  
 Neisser und Lubowski, Centralbl. für Bakteriöl. Bd. XXX. 1901.  
 Nicolle, Annales de l'Institut Pasteur. T. XVIII. 1904.  
 — et Trénel, Comptes rendus soc. de biologie. Année LII. Paris 1900.  
 Petterson, Centralbl. für Bakteriöl. Bd. XX. 1896.  
 Pfeiffer, Deutsche med. Wochenschr. 1901.  
 —, Kochs Festschrift. Jena (G. Fischer) 1903.  
 Pfeiffer und Friedberger, Berlin. klin. Wochenschr. Bd. XXXIX. 1902.  
 —, Centralbl. für Bakteriöl. Bd. XXXIV. 1903.  
 — und Kolle, Centralbl. für Bakteriöl. Bd. XX. 1896.  
 Rehns, Comptes rendus soc. de biologie. Année LII. Paris 1900.  
 Wassermann, Kochs Festschrift. Jena (G. Fischer) 1903.

Nachdruck verboten.

## Ueber die Resistenz des Tuberkulins dem Licht gegenüber. [Mitteilung aus dem Laboratorium von Finsens med. Lichtinstitut, Kopenhagen.]

Von Privatdozent Dr. med. **Hans Jansen.**

Mit 1 Figur.

(Schluß.)

### Eigene Versuche.

Diese zerfallen in zwei Gruppen: A. Intensive Belichtung gekochter, in dünner Schicht ausgebreiteter Tuberkelbacillen. B. Intensive Belichtung von Tuberkulin, sowohl Alt-tuberkulin wie Neutuberkulin (T. R.).

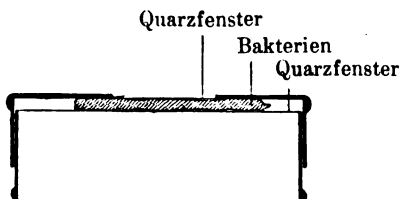
Die Bacillenversuche zeigten die Schwierigkeit, daß das Licht möglicherweise nicht durch die Schicht zu dringen vermochte. Diese



Schwierigkeit fiel bei den Tuberkulinbelichtungen fort, besonders bei dem ganz ungefärbten Neutuberkulin, sowie bei einem speziell für mich zubereiteten Asparagintuberkulin.

### A. Belichtung gekochter Tuberkelbacillen.

Das Verfahren war folgendes: Die Bacillenhäute einiger gänzlich zugewachsener Bouillonkulturen in „Nielsen-Flaschen“ (viereckige Flaschen) oder (in Reihe 4) einiger Kartoffelkulturen wurden auf einem Filter wiederholt mit physiologischer Kochsalzlösung übergossen und danach außerdem durch wiederholte Zentrifugierungen mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen. In einigen Fällen wurde ein Teil dieser ausgewaschenen, noch lebenden Bacillen zu einer Kontrollimpfung abgenommen. Der Rest oder — wo dies nicht geschah — die ganze Portion wurde darauf entweder autoklaviert oder zu wiederholten Malen dampfsterilisiert. Nach Trocknen im Exsiccator bei 37° wurden die Bacillen gewogen und durch Wägen in 2 (oder 3) gleich große Portionen geteilt. Eine diente zur Kontrollimpfung, während die zweite (die andere) belichtet und in allen Versuchen sogar sehr intensiv belichtet wurde. Das Gewicht der Portionen wechselte in den verschiedenen Versuchsreihen von 0,02—0,09 g.



Kapsel in natürlicher Größe. Schnitt.

Die Belichtung ging folgendermaßen vor sich: Die Bacillen wurden in einer zu derartigen Versuchen besonders eingerichteten Kapsel mit Quarzfenster angebracht. Wie aus beigefügter Zeichnung ersichtlich, besteht sie aus zwei ineinander zu schiebenden Gehäusen. Die Bacillen wurden zwischen diese gelegt und derart zusammengepreßt, daß sie in einer dünnen (0,3—0,5 mm) Schicht zu liegen kamen. Die Kapsel wurde im Lichtkegel eines Finsen-Konzentrationsapparates (der als bekannt vorausgesetzt wird) angebracht und gehörig überrieselt. Die Lichtstärke war die-

selbe wie die bei der Behandlung von Lupus ad mod. Finsen angewendete nämlich elektrisches Licht einer 50 Ampère-Kohlenbogenlampe, in ungefähr 10-facher Konzentration der sich in 12 cm Abstand vom Bogen vorfindenden Lichtstärke.

Nach der Belichtung wurde die Portion sorgfältig vom Fenster der Kapsel abgeschabt, mit 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung ausgerieben und intravenös einem Kaninchen injiziert. Ebenfalls die Kontrollportion.

Die Kaninchen wurden in der darauffolgenden Zeit jeden 3. Tag gewogen. Waren sie einen Monat nach der Injektion nicht gestorben, so wurden sie getötet, da es zu diesem Zeitpunkt sehr wohl möglich war, mikroskopische Veränderungen zu finden, selbst ob keine so ernsten Zustände entstanden, daß die Tiere starben.

Die Versuche sind in beigefügter Tabelle I gesammelt, wo auch die Sektionsresultate in zusammengedrängter Form aufgeführt sind. Es ergab sich, daß die Belichtung absolut keinen Einfluß hatte. Sowohl die belichteten wie auch die unbelichteten getöteten Tuberkelbacillen erzeugten einen krankhaften Prozeß, der in der Regel zum Untergang des Tieres in exzessiven Marasmus führte, und man fand eine mehr oder weniger deutliche Aussaat miliarer Tuberkel, hauptsächlich in den Lungen, danach jedoch auch in der Leber.

Bei Mikroskopie von Lunge und Leber sah man in allen Fällen, auch da, wo es sich, wie in Reihe 2 und 4, um nur sehr undeutliche makroskopische Veränderungen handelte, wohlentwickelte miliare Tuberkel, teilweise sogar mit dem typischen Bau: in der Mitte eine oder mehrere Riesenzellen, um diese herum epithelioiden Zellen und am äußersten Rundzellen. Etliche Bacillen und namentlich Bacillenbrocken lagen in Klümpchen hie und da zwischen den epithelioiden Zellen. Nekrotische Partien waren in der Regel nicht vorhanden (jedoch war in einem Falle, K. 47, etwas Nekrose in der Mitte der größten Milia zu beobachten).

Die mit lebenden Bacillen geimpften Kaninchen zeigten ein Bild, das von dem der anderen Kaninchen verschieden war. K. 8 wurde innerhalb der Observationszeit

marastisch, wies jedoch miliare Tuberkulose in Lunge, Leber und Milz auf. K. 45, welches mit einer bedeutend größeren Portion geimpft war, war während der ganzen Zeit nach dem Impfen krank, starb schon am 9. Tage und wies eine intensive miliare Tuberkulose aller Organe auf.

Die Tuberkel enthielten zahlreiche wohlentwickelte Bacillen und waren so gut wie alle in der Mitte nekrotisch.

### B. Belichtung von Tuberkulin.

Es stellte sich mir nun die Aufgabe zu untersuchen, ob das Tuberkulin wirklich so „lichtfest“ war, wie es die unter A gemachten Versuche vermuten ließen. Ich benutzte deshalb sehr intensive Belichtungen und sorgte für so günstige Belichtungsverhältnisse wie möglich. Hier stieß ich sofort auf die Schwierigkeit, daß das gewöhnliche Tuberkulin, das Alttuberkulin, eine für die Durchlichtung mit „chemischen“ Lichtstrahlen höchst unvorteilhafte Farbe hatte, nämlich dunkel gelblich-braun. Es mißlangen die Versuche, mittels Filtrieren durch Knochenkohle und Fällen mit Alkohol mit darauffolgender Auflösung in Wasser ein ungefärbtes Präparat zu schaffen; teils wurde die Flüssigkeit nicht genügend entfärbt, teils verlor sie allzu viel Toxizität. Indessen zeigte es sich, daß man durch Verdünnung des Tuberkulins mit  $\frac{1}{2}$  Proz. Karbolwasser im Verhältnis 1 + 9, so wie es gewöhnlich gebraucht wird, eine klare Flüssigkeit erhielt, welche genügend hell in der Farbe war, daß sie mit Leichtigkeit in einer Schicht von nur 1,5 mm durchlichtet werden konnte, besonders da die Flüssigkeit unter der Belichtung stark entfärbt wurde.

Um jedoch vollständig ungefärbte Medien zu bekommen, machte ich ein paar Versuche mit T. R.<sup>1)</sup>, das bekanntlich eine weißliche trübe Flüssigkeit ist, und mit Asparagintuberkulin, d. w. s. einem Tuberkulin, das aus Tuberkelbacillenkulturen auf einem Asparaginsubstrat zubereitet war. Dieses ist fast ungefärbt, und bei der Zubereitung war außerdem eine allzu kräftige Eindampfung vermieden worden. Das Präparat hatte eine helle strohgelbe Farbe<sup>2)</sup>.

Die Versuche waren übrigens sehr einfach: Durch orientierende Injektionen auf gesunde und tuberkulöse Meerschweinchen verschaffte ich mir Aufklärung über die tödliche Dosis der respektiven Tuberkuline.

Sie erwiesen sich innerhalb gewisser Grenzen als vollständig unschädlich für gesunde ausgewachsene Meerschweinchen, derart wurden bis zu 16 ccm des Alttuberkulins in Verdünnung 1 + 9 und 1 ccm des T. R.<sup>3)</sup> vertragen.

Tuberkulöse Meerschweinchen (1 Monat nach der Infektion) starben in weniger als 24 Stunden bei Injektion von 4 ccm verdünnten Alttuberkulins oder 2 ccm unverdünnten Asparagintuberkulins oder T. R. Ich mußte daher Quantitäten dieser Größe belichten.

Die Belichtung wurde in den von Schmidt-Nielsen zum ersten Male beschriebenen Kammern zur Belichtung von Flüssigkeiten vorgenommen (siehe Mittel. aus F. m. L. Bd. IX. 1905. p. 204 oder Beitr. zur chem. Physiol. u. Pathol. Bd. V. Heft 7—8. p. 360). Eine solche Kammer wird aus einem flachen Glasring gebildet, auf welchem auf jeder Seite eine eben geschliffene Quarzplatte mit Vaseline befestigt wird. Das Loch des Ringes, welches dem Lichtfleck entsprechend 20 mm im Diameter ist, wird hierdurch zu einer Kammer abgeschlossen. Durch einen Einschnitt im Glasring ist offener Zugang zur Kammer, und die Flüssigkeit wird dahindurch aufgefüllt. Die Kammer ist mehr oder weniger tief je nach der Dicke des Ringes.

1) Von Meister, Lucius und Brüning-Höchst.

2) Für dieses Tuberkulin sowohl wie für das angewendete Alttuberkulin sage ich Herrn Prof. C. O. Jensen am Versuchslaboratorium der kgl. Veterinär- und landwirtschaftlichen Hochschule hiermit meinen herzlichsten Dank. Die Zusammensetzung des Asparaginsubstrates war: Die Asche eines Liters Fleischextrakt, 50 g Glycerin, 10 g Asparagin, 1 l Wasser.

3) Die mit T. R. injizierten Meerschweinchen wurden tuberkulös. Dieses Präparat enthält also noch lebensfähige Bacillen (!), ein Verhältnis, das, wie mir bekannt, auch früher beobachtet ist.

In der Regel benutzte ich eine wenig tiefe (flache) Kammer, nämlich mit einem 1,5 mm dicken Ring. Die Flüssigkeitsschicht, welche zur Durchlichtung kam, erhielt derart dieselbe Dicke. Die Flüssigkeitsmenge in der Kammer wurde auf diese Weise sehr gering, nur  $\frac{1}{8}$  ccm. Sollte ich 4 ccm Flüssigkeit belichten, so mußte ich demnach 8 Kammern belichten.

Die Belichtungen wurden übrigens auf gewöhnliche Art vorgenommen mit derselben Lichtstärke wie in Versuchsreihe A. Die Kammer wurde in einem auf dem untersten Teile des Konzentrationsapparates sitzenden Stativ fixiert und sorgfältig überrieselt. Zwischen diesen Belichtungen und den früher besprochenen war nur der Unterschied vorhanden, daß die Kammer außerhalb des Brennpunktes des Lichtkegels auf einer Stelle lag, wo dessen Diameter dem inneren Maß der Kammer entsprechend 20 mm betrug. Hier ist der Querschnitt des Lichtkegels (der Lichtfleck) nämlich immer mehr regelmäßig, zirkelrund als innerhalb des Brennpunktes und kann die runde Kammer daher mehr präzise umfassen (mit derselben zusammenfallen).

Unter der Belichtung des Alttuberkulins trat eine eigentümliche Farb- und Geruchsveränderung ein. Die helle, gelblich-braune Farbe des verdünnten Tuberkulins wurde noch heller, schließlich ganz hell, leicht gelblich. Der Geruch veränderte sich von honigsüß zu einem eigentümlich scharfen, stechenden Geruch, der etwas an denjenigen bei der Anzündung von Horn hervorgerufenen erinnerte.

Tabelle II.  
Belichtung von Tuberkulin.

No. und Datum des Versuches	Art des Tuberkulins	Größe der Dosis	Dicke der Flüssigkeitsschicht	Belichtung <sup>1)</sup>	Meerschw. <sup>2)</sup>		Injektionsresultat (hier wurde nur Rücksicht auf Todesfälle in den ersten 8 Tagen nach der Injektion genommen)
					Bezeichnung	Gew. bei der Anwendg	
1. 18. Juni 1904	Alttuberkulin verd. 1 + 9	2 ccm	1,5 mm (4 Portionen)	1 Stunde unbelichtete Kontrolle	M. 146	570	starb nicht
					M. 144	570	starb nicht
2. 11. Juli 1904	Alttuberkulin verd. 1 + 9	4 ccm	1,5 mm (8 Portionen)	1 Stunde	M. 151	350	Tod innerh. 12 St. Kräftige Reaktion
				unbelichtete Kontrolle	M. 149	480	Tod innerh. 12 St. Kräftige Reaktion
3. 16. Aug. 1904	T. R.	2 ccm	1,5 mm (4 Portionen)	1 Stunde	M. 152	420	Tod 3 Tage darauf. Deutliche Reaktion
				unbelichtete Kontrolle	M. 153	470	starb nicht. Zeigte sich deutlich in geringerem Grade tuberkulös als M. 152
4. 30. Sept. 1904	Asparagintuberkulin	2 ccm	3,2 mm (2 Portionen)	2 Stunden	M. 163	500	Tod vor 24 Stdn. Kräftige Reaktion
				unbelichtete Kontrolle	M. 158	370	Tod 24 St. nachher. Kräftige Reaktion
5. 25. Nov. 1904	Alttuberkulin verd. 1 + 9	4 ccm	1,5 ccm (8 Portionen)	1 Stunde	M. 166	445	Tod vor 12 Stdn. Kräftige Reaktion
				unbelichtete Kontrolle	M. 165	555	Tod vor 12 Stdn. Kräftige Reaktion

1) Bei sämtlichen Belichtungen wurde die Kammer nach Verlauf der halben Zeit gewendet, so daß die Gewebsschicht also erst auf der einen und danach auf der anderen Seite belichtet wurde.

2) Alle die benutzten Meerschweinchen waren 1 Monat lang tuberkulös.

Nach den Belichtungen wurden alle kleinen Portionen zu einer (resp. 4 oder 2 ccm) gesammelt und intraperitoneal auf ein tuberkulöses Meerschweinchen injiziert. Ein entsprechendes Meerschweinchen erhielt dieselbe Dosis unbelichtetes Tuberkulin. War die Dosis wirksam, so trat der Tod in der Regel in weniger als 24 Stunden nach der Injektion ein, und man sah alsdann ein ganz eigentümliches Sektionsbild, das ich in der Tabelle II „Reaktion“ nenne.

Alle tuberkulösen Organe waren der Sitz einer intensiven Hyperämie, jeder einzelne Tuberkel war von einem lebhaft roten Halo umgeben. Die Hyperämie wurde schon in der Bauchwand gespürt, indem die Gefäße hier bedeutend hervortretender als normal waren, besonders um die Einstichstelle. Die erbs- bis nußgroße Inguinalglandel war injiziert, wie mit einem feinen roten Netzwerk umspunnen, und auf der Schnittfläche rötlich (im Gegensatz zu der gewöhnlichen grauen Farbe). Im Peritoneum wurde in der Regel etwas seröse, in einigen Fällen hämorrhagische Flüssigkeit gefunden. Das Omentum war lebhaft rot. Die sehr große Milz war in der Regel tief dunkelrot, ohne irgend welche bestimmte Zeichnung; die käsigen Partien waren von dem geschwellenen Gewebe ganz bedeckt. Besonders deutlich trat die charakteristische Injektion in der Leber hervor, indem um jede der tuberkulösen Inseln, ja um jedes kleine miliare Körnchen ein deutlich roter Ring war. Einzelstehende Tuberkel auf der Innenseite des Peritoneums oder in den Lungen zeigten sich ebenfalls sehr schön von einem roten Halo umgeben.

Die Versuche sind in Tabelle II gesammelt. Wie ersichtlich, sind sie alle negativ ausgefallen. Nicht einmal 2 Stunden lange Belichtung unter den erwähnten günstigen Belichtungsverhältnissen vermochte die Giftigkeit des Tuberkulins für tuberkulöse Meerschweinchen in dem geringsten Grade zu schwächen.

Sowohl Versuchsreihe A über Belichtungen der getöteten Bacillenkörperchen wie auch Versuchsreihe B über Belichtung des extrahierten Toxins fiel also gleichmäßig aus, und als Resultat der Untersuchung ergibt sich, daß das spezifische Toxin des Tuberkelbacillus außerordentlich resistent gegenüber Licht ist, indem es Belichtung mit dem zur Finsenbehandlung angewendeten, starken, konzentrierten Kohlenbogenlicht bis zu 2 Stunden ertragen kann, und sich wenigstens insofern als „lichtfest“ bezeichnen läßt.

#### Literatur.

(Nur die „Lichtliteratur“ mit Titelangabe.)

- Baumgarten, Lehrbuch der pathologischen Mykologie. 1890.  
 Bugge, Norsk Magazin for Laegevidenskab. 1896.  
 Engelhardt, Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XLI. 1902.  
 Fermi und Celli, Beitrag zur Kenntnis des Tetanusgiftes. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XII. 1892. p. 617.)  
 Grancher et Ledoux-Lebard, Arch. de méd. expér. et d'anat. path. 1892.  
 Hertel, Ueber Beeinflussung des Organismus durch Licht, speziell durch die chemisch wirksamen Strahlen. (Zeitschr. f. allg. Physiol. Bd. IV. 1904.)  
 Jodlbauer und Tappeiner, Ueber die Wirkung fluoreszierender Stoffe auf Toxine. (Dtsch. Arch. f. klin. Med. Bd. LXXXV. 1905. Heft 3 u. 4.)  
 Kelber, s. Baumgartens Jahresbericht für 1899.  
 Klingmüller, Berl. klin. Wochenschr. 1903. No. 34.  
 Koch, Deutsche med. Wochenschr. 1891. No. 3.  
 Kostenitsch, Arch. de méd. expér. et d'anat. pathol. 1893.  
 Mafucci, Centralbl. f. allg. Path. u. path. Anat. 1890. No. 26.  
 Panow, Diss. 1902. Ref. in Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXVI.  
 Prudden and Hodenpyl, New York med. Journ. Vol. LIII. 1891.  
 Sternberg, Ref. in Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXII. 1903.  
 Straus et Gamaleia, Contribution à l'étude du poison tuberculeux. (Arch. de méd. expér. et d'anat. path. 1891.)  
 Tizzoni und Cattani, Ueber die Widerstandsfähigkeit der Tetanusbacillen gegen physikalische und chemische Einwirkungen. (Arch. f. exper. Path. Bd. XXVIII. 1891.)  
 Vismann, Virchows Archiv. Bd. CXXIX. 1892.

*Nachdruck verboten.*

## Kasuistische Mitteilungen zur Frage der Rattenpestdiagnose.

[Aus dem staatlichen hygienischen Institut zu Hamburg (Direktor: Prof. Dr. Dunbar).]

Mit 1 Tafel.

### I. Vorbemerkungen.

Von Dr. **Kister**, Abteilungsvorsteher am Institut.

Alle in Hamburg aus pestverdächtigen oder pestverseuchten Häfen einlaufenden Schiffe werden einer genauen hafenärztlichen Kontrolle unterzogen, verdächtige Rattenkadaver werden dem hygienischen Institut zur Untersuchung eingeliefert. Im Jahre 1905 wurden 1205 Rattenkadaver in der hygienisch-bakteriologischen Abteilung des hiesigen Instituts untersucht. Auf 4 Schiffen wurden mit Pestbakterien behaftete Ratten nachgewiesen.

Bereits eine Reihe Arbeiten <sup>1)</sup> aus dem hiesigen hygienischen Institute haben Beiträge zu der Frage der Rattenpestdiagnose gebracht. Da das Hamburgische Institut das einzige in Deutschland ist, dem in größerem Maßstabe Untersuchungen von Rattenkadavern auf Pest obliegt, so werden vielleicht einige weitere kasuistische Mitteilungen zu dieser Frage von Interesse sein.

Es dürften diese Beobachtungen dartun, wie berechtigt die von uns immer vertretene Forderung ist, daß bei Aufstellung bindender Vorschriften für die amtliche vorläufige und endgültige Pestdiagnose nicht allzu sehr schematisiert, sondern dem verantwortlichen Untersucher bei der Beurteilung des Falles ein gewisser Spielraum gelassen werden sollte.

Mit Rücksicht aber darauf, daß es einmal wünschenswert erscheinen könnte, eingehendere Anleitungen zu geben für die Untersuchung pestverdächtiger Rattenkadaver und für eine einheitliche Beurteilung derselben bei der Stellung insbesondere der vorläufigen Pestdiagnose, mit welcher ja schon allerlei Maßnahmen verknüpft sind, scheint es mir nicht unwichtig, die Untersuchungsmethodik anzuführen, welche in Hamburg geübt wird und sich nach unseren immerhin ziemlich umfangreichen Erfahrungen gut bewährt hat.

Bei der Untersuchung pestverdächtiger Kadaver wird im Hamburger Institut seit längerer Zeit in folgender Weise verfahren: Werden mehrere Kadaver zugleich eingeliefert, so werden diese sämtlich zunächst eröffnet. Der nach dem mikroskopischen Befunde verdächtigste Kadaver wird zuerst weiter untersucht. Von den Lymphdrüsen (es kommen in Frage: Inguinaldrüsen, Unterkieferdrüsen, Mesenterialdrüsen, retroperitoneale Lymphdrüsen), sowie von Milz, Leber und Lunge werden Aussaaten auf trockene Agarplatten und auf Gelatineplatten angesetzt, derart, daß mit derselben Schnittfläche des betreffenden Organstückes mehrere parallele feine Striche auf die Nährbodenoberfläche gezogen werden (zur Gewinnung oberflächlicher charakteristischer Kolo-

1) Vergl. Dunbar und Kister, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXVI. Heft I. — Kister und Schumacher, Zeitschr. f. Hyg. Bd. LI. 1905. — Kister und Schmidt, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXVI.

nien, Kossel-Overbecksche Schleifen). Die Platten werden bei 32° bzw. 23° bebrütet. Bei fauligem Material werden weitere, in derselben Weise angelegte Agarserien bei 23° und bei Eisschranktemperatur aufbewahrt. (Eine vorherige Verdünnung des Materials in Bouillon hat sich bei uns nicht bewährt.) Unter Umständen werden auch andere Nährböden, Loefflers Blutserum und zuckerhaltige Nährböden (ersteres empfiehlt sich, wenn pestähnliche Bakterien nahezu in Reinkultur vorhanden zu sein scheinen, da die Pestbakterien auf diesem Nährboden am üppigsten wachsen, letztere sind von Vorteil zur Unterscheidung von Bakterien der Paratyphusgruppe), ferner Salzagar und Bouillon herangezogen. Die mikroskopische Untersuchung erstreckt sich auf die Untersuchung der Ausstrichpräparate sämtlicher genannten Organe im Färbepreparat (kurze Fixierung in Aetheralkohol 55, Färbung mit Loefflerschem Methylenblau) und im hängenden Tropfen. Finden sich pestverdächtige Stäbchen, so werden auch Organausstriche nach Gram gefärbt. (Die meisten pestähnlichen Fäulnisstäbchen färben sich allerdings auch nicht nach Gram.) Werden in einem Organe zahlreiche, bei der genannten mikroskopischen Untersuchung sich wie Pestbakterien verhaltende Polstäbchen nachgewiesen, so wird direkt mit dem Organ-saft, indem zu einem Tropfen desselben ein Tropfen entsprechend verdünnten Pestserums zugesetzt wird, eine orientierende Agglutination<sup>1)</sup> im hängenden Tropfen ausgeführt. Erscheint nach dem Ausfall der makroskopischen und mikroskopischen Untersuchung der Fall als „verdächtig“, so werden folgende Tierversuche angestellt. Mit dem Organ, welches die meisten pestverdächtigen Bakterien enthält, werden geimpft: 1 Ratte durch Einspritzung von 2 ccm, 1 Ratte durch Einspritzung von 1 ccm, 1 Ratte durch Einspritzung von 0,5 ccm Organ-aufschwemmung unter die Haut, 1 Ratte mit einem Organstückchen in eine Hauttasche, 1 Ratte kutan an der Schwanzwurzel, ferner 1 Meerschweinchen mit einem Organstückchen in eine Hauttasche und 2 Meerschweinchen kutan auf die mittelst Schere von Haaren befreite Bauchhaut. (Die Impfung von 3 Ratten mit abgestuften Mengen empfiehlt sich, um einerseits bei Vorhandensein weniger oder wenig virulenter Pestbakterien Aussicht auf Erfolg zu haben, andererseits um nicht durch die Mitwirkung allzu zahlreicher Fäulnisbakterien den Sektionsbefund zu trüben. Die Impfung in die Hauttasche und die kutane Impfung bei Meerschweinchen ist gerade bei faulem Material unentbehrlich, nur gehen die Meerschweinchen in der Regel später ein als die Ratten. Die kutan geimpfte Ratte bleibt allerdings manchmal am Leben, geht sie aber ein, so wird sie eine besondere Stütze für die Diagnose abgeben.) Bei der Impfung der Ratten bedienen wir uns eines Impfdeckels, welcher in der Mitte ein durch Schieber verschließbares rundes Loch besitzt. Durch dieses wird der mit einer kräftigen Rattenzange gefaßte Schwanz der Ratte hindurchgezogen. Nach der Impfung wird die Ratte fallen gelassen und der Impfdeckel mit dem Käfigdeckel vertauscht. Die Meerschweinchen werden bei der Impfung mit der Hand gehalten. In derselben Weise werden die weiteren eingelieferten Rattenkadaver des betreffenden Falles untersucht, nur werden die Tierversuche, soweit es zugänglich erscheint, eingeschränkt oder auch ganz unterlassen.

In der Regel konnte sofort nach der makroskopischen und mikroskopischen Untersuchung der betreffende Rattenkadaver als verdächtig

1) Vergl. Dunbar, Berliner klin. Wochenschr. 1905. No. 39.

oder unverdächtig bezeichnet und die gestellte Diagnose alsbald durch die weitere Untersuchung (Kulturen, Agglutination, Tierversuch) bestätigt werden.

In einer Reihe von Fällen aber waren mit der Beurteilung des Falles, sei es bezüglich der vorläufigen oder bei der endgültigen Diagnose, Schwierigkeiten verknüpft. Diese können darin bestehen, daß durch den pathologisch-anatomischen Befund der Ratten oder durch das pestähnliche mikroskopische Bild bei einem negativen Falle eine Rattenpest vorge täuscht wird, oder daß es sich tatsächlich um Rattenpest handelt, die für eine definitive amtliche Diagnose erforderlichen Beweismittel aber infolge der Ueberzahl anderer Bakterien oder eines in irgend einer Hinsicht abweichenden Verhaltens der Pesterreger nicht mit der erwünschten Schnelligkeit erbracht werden können.

Es sollen hier nun 3 Fälle des vergangenen Jahres kurz mitgeteilt werden. Der erste von Trautmann berichtete Fall gehört in die Kategorie der zuerst genannten Fälle, in welchen äußerst pestähnliche Polstäbchen den Verdacht auf Pest erwecken können, trotzdem eine solche aber nicht vorliegt; in den beiden anderen Fällen handelte es sich zwar um Rattenpest, die vorläufige Diagnose wurde auch in diesem Sinne sofort abgegeben, die weitere Untersuchung jedoch bot insofern Schwierigkeiten, als es in dem einen Falle infolge zahlreicher Begleitbakterien und geringer Wachstumsenergie der Pestbakterien nicht gleich gelang, Reinkulturen zu gewinnen und in völlig einwandfreier Weise die Agglutination durchzuführen, in dem anderen Falle aber der Tierversuch infolge geringer Virulenz der Pestbakterien in unerwarteter Weise verlief.

## II. Pestverdächtiger Fall „Balfour“.

Von Dr. H. Trautmann, wissenschaftlichem Assistenten am Institute.

Am 6. Dezember 1905 nachmittags wurden 2 tote Ratten, als vom Dampfer Baron Balfour stammend, zur Untersuchung eingeliefert. Beide waren im Zustande vorgeschrittener Fäulnis. Die eine hatte makroskopisch und mikroskopisch keinerlei verdächtigen Befund. Die zweite dagegen, ein *Mus alexandrinus*, erregte namentlich durch Reste früherer Injektion einen gewissen Pestverdacht, während das übrige Symptomenbild:

Inguinaldrüsen: gering geschwollen, schwarz (vergrößerte Halsdrüsen fehlen);

Leber: graurot, schlaff, groß, } ohne nekrotische Herde;  
Milz: rotgrau, schlaff, klein, }

Lunge: links graurot, gescheckt, rechts blutig ödematös, luftleer; spezifische Herde nicht erkenntlich;

Darm: einige leicht geschwollene, graubraun verfärbte Peyer'sche Drüsenhaufen; Mesenterialdrüse nicht vergrößert;

Magen: enthält nach Pfefferkorn riechenden Inhalt unbedenklich erschien.

Der schwache, durch die Spuren ehemaliger Injektion erregte Verdacht wurde durch die mikroskopischen Präparate aus den Organen des Tieres wesentlich verstärkt. Namentlich war es die Lunge, die unzählige Polstäbchen in dichten Haufen erkennen ließ. Die Form dieser ausgeprägt bipolar gefärbten Gebilde war an vielen Stellen der Präparate so pestähnlich, daß auf Grund morphologischer Unterschiede eine Differentialdiagnose unmöglich gestellt werden konnte. Das beigegebene Photogramm (Fig. 1), dem zum Vergleiche ein Pestpräparat entgegen-



gestellt wird (Fig. 2), mag eine Vorstellung davon geben. Zwischen den bald tonnenförmigen, bald schlankeren Polstäbchen, die in der Lunge<sup>1)</sup> fast in Reinkultur vorhanden waren, sah man Schläuche und ganz vereinzelte schmalere Bakterien. Dagegen wurden Ring- und Scheibenformen, nach denen wir bei alten Pestveränderungen fast stets mit Erfolg suchen, vermißt.

Mußte man hiernach trotz beinahe gänzlichen Fehlens makroskopischer Verdachtsymptome mit der Möglichkeit eines positiven Falles rechnen, so war nach der Mengenverteilung der Bakterien in den Organen eine primäre Lungenpest am wahrscheinlichsten. Eine Maulinfektion der Ratten vom Rachenlymphring aus dürfte für ausgeschlossen gelten, weil in solchen Fällen erfahrungsgemäß die Lymphdrüsen des Halses in Mitleidenschaft gezogen worden wären. Daß das Virus vom Darms aus oder durch die Haut irgend einer Körperstelle eingedrungen wäre, erschien nach den geringen Befunden an dem jeweilig in Betracht kommenden Drüsenapparat ebenfalls unwahrscheinlich.

Zur Erhärtung einer „Verdachtsdiagnose“ wurden sofort Präparate nach Gram gefärbt, hängende Tropfen aus dem Gewebesaft zur Prüfung auf Unbeweglichkeit der Bakterien angelegt und Agglutinationen im Sinne der von Dunbar<sup>2)</sup> für Cholera beschriebenen Schnelldiagnose mit Organsaft versucht. Diese beruht darauf, daß das zur Untersuchung kommende Material, bei Cholera also der Darminhalt, mit spezifischem Serum direkt versetzt und so auf Beeinflussung analog einer Agglutinationsprüfung im hängenden Tropfen untersucht wird. Einen gewissen Vorteil kann bei Reininfektionen auch die sofortige Verimpfung kleiner Stücke der betreffenden Organe in Zuckerbouillon bieten, die bereits am nächsten Morgen ein Urteil darüber gestattet, ob den in ihnen enthaltenen Mikroorganismen die Fähigkeit fehlt, Traubenzucker unter Gasbildung zu spalten.

Diese Hilfemaßnahmen wurden auch in unserem Falle versucht und sie machten es sehr wahrscheinlich, daß nur einer der uns bereits bekannten pestähnlichen Fälle vorliege. Zwar die Gram-Präparate waren geeignet, die Diagnosenstellung noch zu erschweren, denn fast sämtliche Bakterien der Ausstriche reagierten negativ und zeigten sogar auch in der Kontrastfarbe zum Teil ausgesprochene Polfärbung. Nur ganz wenige schmale Bacillen erschienen blau gefärbt. Die hängenden Tropfen aber ergaben ungemein lebhafte Bewegung fast aller Individuen; insonderheit waren auch die durch ihre Brechungsverhältnisse als die Polbakterien der Färbepreparate sich erweisenden Mikroorganismen, sowie die angedeuteten Schläuche von größter Beweglichkeit. Nicht minder beruhigend gestaltete sich der Ausfall der Schnellagglutination mit wirksamem Pestserum. Diese Probe, die sich nach den nachstehenden Darlegungen Schumachers in dem „Karthago“-Fall als wohl brauchbar erweisen sollte, blieb in unserem Falle völlig negativ<sup>3)</sup>.

1) Gerade in den Lungen fauler Ratten finden wir sehr häufig mehr oder minder pestähnliche Polbakterien.

2) l. c.

3) Gleicherweise zeigte ein hochwertiges Serum des *Bac. paratyphosus enteritidis* (Gärtner) keine Beeinflussung der reichlich im Tropfen suspendierten Lungenbakterien. Daß man in fraglichen Fällen zuweilen mit Nutzen auch an den eben genannten Bacillus denken wird, zeigt eine Arbeit in der Zeitschrift für Hygiene, 1906: „Bakterien der Paratyphusgruppe als Rattenschädlinge und Rattenvertilger“, die gleichzeitig einen Beitrag zur differentiellen Rattenpestdiagnose darstellt.

(Fortsetzung folgt.)



### Berichtigung.

In dem Artikel von E. Bertarelli, Ueber die Transmission der Syphilis auf das Kaninchen (dies. Centralbl. Heft 3), ist auf S. 322 Z. 4 u. 11 von oben statt 10. Febr. und 13. Febr. zu lesen 10. April und 13. April.

---

*Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Ein-sendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.*

---

### Inhalt.

- |   |  |
|---|--|
| <p><b>Bertarelli, E.</b>, Ueber den Durchgang der hämolytischen Ambozeptoren und der Präzipitine in die Milch der aktiv immunisierten Tiere, p. 767.</p> <p><b>Bosc, F. J.</b>, Les maladies bryocytiques (maladies à protozoaires). IV. La Syphilis, p. 729.</p> <p><b>Byloff, Karl</b>, Ueber eine pestähnliche Erkrankung der Meerschweinchen, p. 707.</p> <p><b>Eisenberg, Philipp</b>, Weitere Untersuchungen über den Mechanismus der Agglutination und Präzipitation. (Forts.), p. 752.</p> <p><b>Fichera, G.</b>, Zur Kenntnis der Immunisierungsverhältnisse der Cholera-vibrien. (Schluß.), p. 771.</p> <p><b>Gabritschewsky, G.</b>, Ueber Streptokokkenvaccine und deren Verwendung bei der Druse der Pferde und dem Scharlach des Menschen, p. 719.</p> <p><b>Galli-Valerio, Bruno</b>, Notes de Parasitologie. (Schluß.), p. 745.</p> <p><b>Ghon, A., Mucha, V. und Müller, E.</b>, Beiträge zur Kenntnis der anaeroben Bakterien des Menschen. IV. Zur Ätiologie der akuten Meningitis. (Schluß.), p. 689.</p> | <p><b>Hammerl, Hans</b>, Studien über die Morphologie des <i>Vibrio cholerae asiaticae</i>. (Forts.), p. 695.</p> <p><b>Hasslauer</b>, Der Bakteriengehalt der Nase bei den Infektionskrankheiten, mit besonderer Berücksichtigung der Meningitis cerebrospinalis epidemica. (Forts.), p. 723.</p> <p><b>Hoffmann, Erich und v. Prowasek, S.</b>, Untersuchungen über die Balanitis- und Mundspirochäten, p. 741.</p> <p><b>Jansen, Hans</b>, Ueber die Resistenz des Tuberkulins dem Licht gegenüber. (Schluß.), p. 775.</p> <p><b>Kisskalt, Karl</b>, Kasuistische Mitteilungen. I., p. 701.</p> <p><b>Kister</b>, Kasuistische Mitteilungen zur Frage der Rattenpestdiagnose, p. 780.</p> <p><b>Klimenko, W. N.</b>, <i>Bacillus paratyphosus B e cane</i>. (Schluß.), p. 702.</p> <p><b>v. Linstow</b>, Neue Helminthen, p. 749.</p> <p><b>Saling, Theodor</b>, Zur Kritik der <i>Spirochaete pallida</i> Schaud., p. 737.</p> <p><b>Schumacher, Gerh.</b>, Ueber den <i>Streptococcus mucosus</i> und seine Unterscheidung von anderen Streptokokkenarten. (Schluß.), p. 712.</p> |
|---|--|

Berichtigung, p. 784.

# Studien über die Morphologie des *Vibrio cholerae asiaticae*.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Graz.]

Von Privatdozent Dr. **Hans Hammerl**.

Mit 1 Tafel und 1 Figur.

(Fortsetzung.)

Was hat sich nun als Resultat der mitgeteilten Versuche ergeben?

Zunächst die Tatsache, daß unter der großen Zahl der untersuchten Stämme relativ nur wenige unter gewissen Bedingungen die beschriebenen runden und bläschenartigen Formen entstehen lassen, und daß hierfür in erster Linie die Konzentration der Salzlösungen, viel weniger die Menge des Peptons von ausschlaggebender Bedeutung ist. Auch welches Kation oder Anion im neutralen Salze enthalten ist, kommt nicht so sehr in Betracht als die Menge. Die Kulturen 27 c, 63 und „Klein“ zeigen die beschriebenen Veränderungen in  $\frac{1}{2}$ — $\frac{1}{8}$ -proz. Lösungen von NaCl, KCl, LiCl; regelmäßig erscheinen hier Kugeln und Bläschen, häufig zu Trauben vereinigt. Während aber bei den erstgenannten Stämmen auch  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  dieselben Gestaltsveränderungen hervorbringt, wird „Klein“ durch dieses Salz nur wenig beeinflusst. Dafür bildet dieser Stamm in verdünnten  $\text{KNO}_3$ -Lösungen besonders große und schöne Blasen, während bei allen anderen Kulturen die Spirillengestalt durch dieses Neutralsalz wenig oder gar keine Veränderung erfährt. Obwohl nun gerade dieses singuläre Verhalten der Kultur „Klein“ erwarten ließ, daß bei Verwendung anderer Salzlösungen noch eine weitere Anzahl von Kulturen gefunden werden dürfte, die in der beschriebenen Weise beeinflussbar sind, so wurden nach dieser Richtung die Versuche doch nicht weiter fortgesetzt, sondern durch Abänderung des N-Trägers festzustellen gesucht, inwieweit auf diesen Wege die Bildung abnormer Wuchsformen zu erzielen ist. Wenn möglich, sollte ein Nährboden gefunden werden, der im stande ist, ohne oder mit Zusatz von Salzen bei allen oder wenigstens bei der Mehrzahl der Kulturen weitgehende Gestaltsveränderungen hervorzurufen. Ich möchte gleich an dieser Stelle bemerken, daß dieses Ziel zu erreichen mir trotz zahlreicher Versuche nicht gelungen ist. Auch gegenüber den verschiedenen N-Trägern verhalten sich die Vibrionen der *Cholera asiatica* verschiedener Provenienz ungleich.

Um nicht durch detaillierte Wiedergabe der Versuchsreihen zu ermüden, will ich im folgenden möglichst kurz die einzelnen Versuchsergebnisse zusammenfassen, und zwar zunächst die positiven Resultate anführen. Bei jedem Nährmedium sind die Kulturen, deren Verhalten geprüft worden ist, in Klammern beigefügt.

Gewöhnliches Nähragar mit 2 Proz. LiCl (83, 63, 17, 50, 322).

Gewöhnliche Nährgelatine mit 1 Proz. LiCl (24, 321, 36).

Bouillon mit 2 Proz. LiCl (Freiburg, 11, 17, El Tor, 322, 27, Bombay).

Bouillon mit 1 Proz. LiCl (47).

Fleischextrakt in  $\frac{1}{2}$ - und 1-proz. Lösung (27 c).

Fleischextrakt in 2-, 3-, 4-proz. Lösung (27).

Fleischextrakt in  $\frac{1}{2}$ -, 1-, 2-, 3-proz. Lösung mit 1 Proz. Pepton (27).

Hühnerserum 1— $\frac{1}{4}$  Proz. (47).

Rinderserum 1 Proz. (7, 47, 57).

Menschenserum 1 Proz. (47).

Alkoholisches Eiweißpräzipitat, gelöst in sehr verdünnter NaOH (63).

Eiweißlösung 2- und 3-proz. (7, 322).

Verdünntes Ovomukoid [hergestellt nach Langstein und Meyer, Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXV. p. 270] (63, 47).

Alkalisieretes Fleischwasser (ohne Pepton- und Kochsalzzusatz) mit 1 Proz. LiCl (Berlin 27, 63).

Negative Resultate ergaben die Impfungen in folgende Nährlösungen:

Bouillon im Verhältnisse von 1 : 8, 16, 32 mit Aqua dest. verdünnt (57, 47, 36, Bombay 321).

Gewöhnliche Nährbouillon mit 1 Proz. LiCl (Berlin 27, 24, 7, 63, Duisburg, Klein).

Gewöhnliche Nährbouillon mit 2 Proz. LiCl, meist sehr spärliche Entwicklung (27, 27 c, Bombay, Klein).

Gewöhnliches Nähragar mit 2 Proz. LiCl, zumeist sehr spärliches Wachstum (10, 11, 47, Berlin, El Tor, Freiburg, 321, Klein, Bombay, 27 und 27 c).

Gewöhnliches Nähragar mit  $\frac{1}{4}$  Proz. P.-KCl Zusatz (63).

Leicht alkalisch gemachtes Fleischwasser (ohne Pepton-Kochsalzzusatz) konzentriert und verdünnt (47 und 57).

Alkalisch gemachtes Fleischwasser mit 1 Proz. LiCl (Duisburg, Klein.) 1,  $\frac{1}{2}$ ,  $\frac{1}{4}$  Proz. asparaginsaures Natron (36, 47, 57, 7, 322).

1 Proz. Rinderserum (83, 322, 36).

2 Proz. und 4 Proz. Rinderserum (83, 10, 24).

Rinderserum im Verhältnisse von 1 : 2, 4, 8, 16, 32, mit Aqua dest. verdünnt (7, 83).

1 Proz. Rinderserum mit 1 Proz. Pepton-Kochsalzlösung (36, 11, 7, 83, 57, 24, 47).

1 Proz. menschliches Serum (57, 7, 83, 36).

5 Proz. menschliches Serum (7, 24, 36, 57, 47, 11, 83).

Lösung von Hühnereiweiß im Verhältnisse von 1—6 mit 100 Aqua dest. verdünnt. (Man stellt sich durch allmähliche Zugabe von sterilem Wasser und sorgfältigem Vermischen desselben mit dem keimfrei entnommenen Eiweiß eine ca. 10-proz. Lösung her; von dieser Lösung lassen sich dann durch Uebertragung in heißes Wasser geringer prozentige Lösungen bereiten, die, ohne sich wesentlich zu trüben, sterilisiert werden können.) (83, 36, 24, 17, 7, 11, 322, 10).

Ovomukoid in der gegebenen Konzentration und verdünnt (7, 83, 322).

Ovomukoid mit NaCl-Zusatz (47, 57).

Unverdünnte und im Verhältnisse von 1 : 2, 4, 8, 16 mit sterilem Wasser verdünnte Ascitesflüssigkeit (47, 7, 36, 83).

Glaskörperflüssigkeit vom Auge des Rindes durch Berkefeldfilter filtriert und im Verhältnisse von 1 : 4, 8 mit Aqua destillata gemischt (7, 63, 83, 7, 322, 47, 11, 36, 57, 17, 50, 10, 24).

Da bei den Versuchen mit Pepton der Zusatz von neutralen Salzen sich als wichtig und ausschlaggebend für die Entstehung der abnormen Wuchsformen herausgestellt hatte, so wurden, um möglichst rein den

Einfluß der verschiedenen eiweißhaltigen Flüssigkeiten auf die Morphologie des Choleravibrio zu erhalten, die in diesen Lösungen enthaltenen Salze durch Dialyse möglichst entfernt. Das Wachstum in diesen Flüssigkeiten war jedoch von dem in nicht dialysierten Lösungen kein wesentlich verschiedenes.

Ascites unverdünnt und im Verhältnisse von 1:2, 4, 8, 16 mit sterilem Aqua. dest. verdünnt (47, 7, 36, 83).

5-proz. Eiweißlösung (57, 83, 322, 7, 24, 63).

Blutserum verdünnt bis zum Verhältnisse von 1:32 mit Aqua. dest. (7).

Fleischextraktlösung 1— $\frac{1}{8}$ -proz. (7, 47, 83, 24).

Glaskörperflüssigkeit (24, 57, 7).

Als Resultat dieser Versuche mit den verschiedenen N-Trägern ergibt sich somit die Tatsache, daß der Art und Menge desselben für die Entstehung der abnormen Wuchsform eine ausschlaggebende Bedeutung nicht zuerkannt werden kann. In mehreren der geprüften Lösungen zeigen, wie bei dem Wachstum in Pepton, nur einige Kulturen die Kugeln, Bläschen und vielgestalteten Gebilde, während die Mehrzahl der Stämme unbeeinflusst bleibt. Eine gewisse Gesetzmäßigkeit ergibt sich nur insofern, als jene Stämme, die überhaupt eine ausgesprochene Neigung zur Bildung von abnormen Formen besitzen, diese Eigenschaft auch in anderen Nährlösungen als Pepton hervortreten lassen, wobei infolge der nicht immer gleichen Zusammensetzung derselben die Abweichungen von der normalen Gestalt nicht mit derselben Konstanz auftreten wie im Pepton.

Wie kann man nun das Auftreten der abnormen Wuchsformen erklären, wie die Beobachtungen über das verschiedene Verhalten der Kulturen, das Zustandekommen der Gestaltsveränderungen in nur bestimmten Nährböden mit bekannten physiologischen Gesetzen in Einklang bringen? Gamaleia glaubt berechtigt zu sein, die osmotische Theorie gänzlich beiseite lassen zu können, und zwar hauptsächlich deswegen, weil die Wirkung der Lithionsalze nicht entsprechend dem Molekularäquivalent eintritt. Er neigt vielmehr zu der Anschauung, daß diese Bakterienkugeln Homologe der Konidien und Sporangien der Pilze darstellen, und daß die Bakterien selbst nichts anderes sind als spezialisierte und degenerierte Pilze. Gamaleia nimmt an, daß das neutrale Lithionsalz nach seinem Eintritt in die Zelle in ein kohlen-saures Salz verwandelt wird, und daß dann die intracelluläre Phosphorsäure in unlöslicher Form ausfällt. Wieso unter Annahme dieser chemischen Vorgänge die Kugelgestalt zu stande kommt, darüber äußert sich Gamaleia nicht. Matzuschita faßt die von ihm gesehenen Bildungen beim Choleravibrio kurz als Degenerationsformen auf. Maassen ist der Ansicht, daß der Hauptsache nach die Entstehung der abnormen Wuchsform auf eine chemische Einwirkung der Salze zurückzuführen ist. Vor allem sei es die Wirkung der Kationen, welche diese Wuchsform hervorbringen. Die Art der Anionen sei ausschlaggebend für die Geschwindigkeit, mit welcher die Kationen in die Zellen eindringen. Er sagt dann weiter: „Am stärksten verzögernd wirken die  $\text{SO}_4$ -Ionen, was sich durch die auffallend geringe Wirksamkeit der Sulfate hauptsächlich dann äußert, wenn dem betreffenden Kation an und für sich eine verhältnismäßig schwache Wirkung zukommt“.

Almquist sieht die Kugeln gleich Gamaleia als Fruchtbildung, ähnlich den Konidien höherer Pflanzen an, ohne aber über die Art und Weise der Entstehung derselben eine Vermutung zu äußern.

Mich hat die Mechanik des Zustandekommens dieser so weitgehenden Gestaltsveränderung vor allem interessiert und sind, um die dabei in Wirkung tretenden physikalischen Gesetze zu finden, die zahlreichen Versuche angestellt worden. Die Frage, ob die Kugeln und Bläschen den bei höheren Pilzen vorkommenden Fruchtbildungen gleichzustellen sind oder nicht, lasse ich offen. Ich glaube nicht, daß dies der Fall ist, sieht man doch, von der geblähten Kommaform, die wie ein Halbmond aussieht, angefangen, bis zu den großen runden Formen, deren Durchmesser 5—6  $\mu$  beträgt, alle denkbaren Uebergänge und ist daher in jedem einzelnen Fall eine Entscheidung zu treffen, ob man es nur mit einer geblähten Form oder einem ausgebildeten Fruchtorgan zu tun hat, fast unmöglich. Ausgeschlossen ist es ja nicht, daß die biologische Wertigkeit dieser Kugeln und Bläschen eine andere ist, als die der normalen Spirillen, ich bin nur nicht im stande, zwingende Beweise für diese Anschauung anzuführen. — Mit der von A. Fischer beschriebenen Plasmoptyse hat das Auftreten dieser Form jedenfalls nichts zu tun. Trotz der in großer Zahl vorgenommenen Untersuchungen im hängenden Tropfen konnten Vorgänge, wie sie Fischer beschreibt und als Plasmoptyse deutet, niemals beobachtet werden. Daß es sich bei diesen beschriebenen Formen nicht um Gebilde handelt, welche dem Untergange geweiht sind, geht, um es noch einmal hervorzuheben, schon daraus hervor, daß sie lebhaft beweglich sind, daß sie sich noch nach längerer Zeit mit Erfolg auf frische Nährböden überimpfen lassen, und vor allem aus dem Umstand, daß aus ihnen wieder annähernd normale Komma- und Spirillenformen hervorgehen können. Ob überhaupt das von Fischer als Plasmoptyse beschriebene Phänomen in Wirklichkeit vorkommt, erscheint nach A. Meyers Beobachtungen und Erfahrungen zumindest zweifelhaft. An dem *Bacillus cylindricus* konnte dieser Autor unter bestimmten Bedingungen das Auftreten ähnlicher Kugeln konstatieren, wie sie von Fischer als durch Plasmoptyse entstanden beschrieben worden sind. Die Beobachtung unter dem Mikroskop zeigte aber, daß diese Formen nicht durch Ausstoßung des Protoplasmas zu stande kommen, sondern daß allmählich die normale Gestalt in eine birnförmige und dann in eine runde sich umwandelt. Eine bestimmte Erklärung für das Auftreten dieser Form gibt A. Meyer nicht. Nach den gemachten Erfahrungen glaubt er die Vermutung aussprechen zu können, daß die Zurückbildung im Innern der Zelle in einem gewissen Zusammenhange mit dem Auftreten der Kugeln stehe, und daß vielleicht auch Veränderungen der Membran eine Rolle spielen.

(Schluß folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Ueber eine pestähnliche Erkrankung der Meerschweinchen.

[Aus dem Institute für allgemeine und experimentelle Pathologie in Graz (Vorstand: Prof. R. Klemensiewicz).]

Von **Karl Byloff**, Assistenten am Institute.

Mit 1 Tafel.

(Fortsetzung.)

So leicht die Darstellung des Bacillus in derartigen Ausstrichpräparaten ist, so schwierig ist oft der Nachweis derselben in den Organschnitten. Dieselben wurden aus mit Formolalkohol fixierten und auf die übliche Weise in steigendem Alkohol gehärteten und schließlich in Paraffin eingebetteten Stücken hergestellt. Bei deren Färbung macht sich die schon erwähnte schlechte Färbbarkeit der Bakterien recht unangenehm geltend. Die behufs Entwässerung unvermeidliche Behandlung des Schnittes mit Alkohol raubt den Bacillen beinahe den letzten Rest von Farbstoff, so daß sie gegenüber den stark tingierten Gewebeelementen kaum sichtbar sind. Man tut am besten, jene Färbungsmethoden anzuwenden, die für die gramnegativen Bakterien angegeben sind. Dabei bewähren sich das alkalische Methylenblau als einfachstes Tinktionsmittel, die Romanowsky-Methode und die von Pregl angegebene Färbung mit Karbolmethylenblau noch am besten.

Bei Anwendung der Gramschen Färbung werden die Bacillen sowohl in den Gewebeschnitten wie in Organausstrichen als auch in Ausstrichen von Reinkulturen gänzlich und sehr leicht entfärbt.

Kapselbildung ist bei diesen Bacillen nicht konstatierbar, obwohl das Aneinanderkleben der Bacillen oft diese Vermutung aufdrängt. Es ist mir jedoch durch Anwendung dahinzielender Färbungsmethoden der Nachweis einer Kapsel niemals gelungen.

Im hängenden Tropfen und in kapillarer Schicht untersucht, zeigen die Bacillen Eigenbewegung, die aber nicht ohne weiteres festzustellen ist, da sie nur gering im Verhältnisse zu anderen gut beweglichen Bakterienarten ist. Immerhin ist sie aber doch noch so ausgesprochen, daß sie mit der sonst auch bei unbeweglichen Bakterien vorkommenden Molekularbewegung nicht leicht verwechselt werden kann. Daß keine Täuschung vorliegt, beweisen nach Zettnow gefärbte Agarkulturausstriche, in denen unzweifelhafte Geißeln zu beobachten waren. Der Bacillus besitzt nach diesen Präparaten eine Geißel an einem Polende. Dieselbe ist nicht ganz so lang als der Bacillenleib, was vielleicht zusammengenommen mit der Einzahl eine Erklärung für die schlechte Beweglichkeit wäre.

### Kulturelle Eigenschaften des Bacillus.

Zum Zwecke der Züchtung auf künstlichen Nährböden ging ich folgenderweise vor. Dem auf das sorgfältigste aseptisch eröffneten Kadaver entnahm ich vorerst mit einer Platinöse eine kleine Menge des freien Exsudates der Bauchhöhle und übertrug es auf verschiedene Nährböden. Dann suchte ich eine möglichst oberflächlich gelegene Lymphdrüse auf, was bei deren beträchtlicher Vergrößerung fast immer leicht zu erreichen war, brannte mit einem heißen Messer oder einem

Scherenblatte die Oberfläche der Drüse sorgfältig ab, ging dann mit einer sterilen Schere in das Innere derselben ein, so daß der rahm-artige, gelblich gefärbte Eiter hervorquoll, entfernte die halbflüssige Masse desselben mit steriler Oese und entnahm dann erst mittels der neuerdings sterilisierten Oese von den Wänden des Eiterherdes das Material, das dann in üblicher Weise auf die verschiedenen Nährböden übertragen wurde. Auf dieselbe Art wurde auch die Verimpfung des Untersuchungsmaterials aus den größeren und kleineren Beulen der Leber und der Milz vorgenommen. Nachdem so den Beulen der Abdominalorgane das Verimpfungsmaterial entnommen war, wurde unter aseptischen Kautelen die Thoraxhöhle eröffnet, von dem hier gewöhnlich vorhandenen blutig-serösen Exsudate abermals mehrere Abimpfungen gemacht und dann auch von dem Herzblute durch Einstich mit einer glühenden Platinnadel in einen der strotzend gefüllten Vorhöfe etwas verimpft. Zum Schlusse wurden Organstücke zur Herstellung von Schnitten in Formolalkohol eingelegt und von den frischen Schnittflächen der Organe Ausstriche angefertigt.

Daß man von dem käsig eingedickten Eiter, dem Inhalte der Beulen bei vorgeschrittenen Prozessen, keine oder nur höchst selten Kulturen erhält, wurde schon bei Besprechung der Ausstrichpräparate und ihrer Bilder erwähnt.

Bei Züchtung derartig auf künstlichen Nährböden ausgesäter Keime im Wärmeschranke von  $33-35^{\circ}\text{C}$  erhielt ich fast ausnahmslos Reinkulturen des oben mehrfach erwähnten Kurzstäbchens. Bei Uebertragung von Leichenmaterial auf künstliche Nährböden machte sich aber der Einfluß von Temperatur, Reaktion und Feuchtigkeit des Nährbodens, besonders bei der Kultur der ersten Generation, in bedeutendem Maße geltend.

Was zunächst die Temperatur anbelangt, so liegen die Wachstumsgrenzen des Bacillus ziemlich weit auseinander. Als obere Grenze, bei der unser Bacillus noch gut gedeiht, kann eine Brüttemperatur von  $30-35^{\circ}\text{C}$  gelten. Bei Züchtung im Brütschranke von  $37-39^{\circ}\text{C}$  erkennt man schon eine Verlangsamung des Wachstums, während ein Aufenthalt in einem Schranke von  $40-42^{\circ}\text{C}$  das Wachstum innerhalb 12 Stunden vollständig hemmt. Gegen niedere Temperaturen ist der Bacillus weniger empfindlich. Bei Zimmertemperatur ( $20^{\circ}$ ) und bei Temperaturen von  $17-20^{\circ}\text{C}$  gedeiht er noch gut und verliert auch bei Temperaturen bis gegen  $0^{\circ}$  seine Vegetationsfähigkeit nicht. Das Wachstum ist jedoch bei allen Temperaturen, und zwar besonders bei Brüttemperaturen auffällig langsam, und darin mag wohl auch der Grund liegen, daß ich das Temperaturoptimum nur schwer feststellen konnte. Nach meinen Versuchen scheint die Bacillenart eher an niedrigere als auf hohe Temperaturen angepaßt zu sein.

Die Reaktion des Nährbodens, mit Lackmus oder Lackmuspräparaten geprüft, ist am besten neutral zu stellen. Höhere Alkaleszenz beeinträchtigt das Wachstum merklich. Noch empfindlicher ist der Bacillus gegen die saure Reaktion des Nährbodens. Glycerin oder Traubenzuckerzusatz üben keinen wesentlichen Einfluß auf die Entwicklung des Bacillus aus.

Der Feuchtigkeitsgehalt der festen Nährböden darf nicht zu gering sein. In älteren trockenen Nährmedien gedeiht der Bacillus entweder gar nicht oder nur langsam und mit Bildung von verschiedenen Involutionsformen.

Die Kultur wächst langsam an und zeigt nach 24 Stunden ein kaum kenntliches Wachstum; erst nach 48 Stunden ist deutliches Wachstum merkbar, das aber nur wenige Tage auf dem von mir benützten Nährboden andauert, so daß nach 3—4 Tagen die Vegetation ihr Ende erreicht. Die Vorliebe des *Bacillus* für niedere Temperaturen ergibt sich auch aus dessen verhältnismäßig gutem Gedeihen auf Gelatine.

Auf der in üblicher Weise angelegten Gelatineplatte zeigten sich am 2. Tage deutliche Kolonien. Bei Verfolgung des Wachstums derselben sieht man zuerst sowohl auf der Oberfläche wie in der Tiefe stark lichtbrechende, kreisrunde Kolonien, von denen die oberflächlich gelegenen etwas größer sind und gelblich gefärbt erscheinen. Im Verlaufe des weiteren Wachstums beginnen sich die Kolonien zu trüben, zeigen ein grau-weißliches, etwas opaleszierendes Aussehen. An der Peripherie des ursprünglich kreisrunden Konturs treten kolbige Ausläufer hervor. Immer wächst die Kolonie mehr oder minder konzentrisch um den ausgesäten Keim herum an. Schon am 2. Tage ist die Kolonie als ein kleines Bläschen kenntlich und bei dem weiteren Wachstum ragt das Zentrum wie eine Papille über die Oberfläche der plattenförmigen Kolonie hervor. Von der papillenähnlichen Mitte der Kolonie gehen bis an die Peripherie Leisten in ähnlicher Weise wie bei den Kolonien von *B. typh. abdom.* oder *Bact. coli*. Nicht selten findet man die Kolonien von einem Kranze von Kristalldrusen umgeben, die sich aus der Gelatine ausscheiden, wenn dieselbe ihren Wassergehalt und ihre Reaktion ändert. Diese Erscheinung ist nur bei der Plattenkultur zu beobachten, nie habe ich sie in Strich- und Stichkulturen auftreten sehen. Dieser Kranz ist von einer festen, wie schon erwähnt, kristallinisch aussehenden Masse gebildet und nicht mit einem Verflüssigungshofe zu verwechseln, denn der *Bacillus* verflüssigt Gelatine nicht.

Auch die tiefliegenden Kolonien verlieren mit der Zeit ihr glashelles Aussehen, werden fein granuliert, nehmen ein schmutziges Graubraun an und zeigen einen unregelmäßigen Kontur. In der Peripherie werden sie allmählich von einer frischen Kulturhülle umgeben, die wie die oben beschriebene junge, tiefliegende Kolonie glashell ist und sich unter dem Mikroskope bei der Vergrößerung von 1:100 wie ein lichter Hof präsentiert.

Die Bacillen scheinen für die Zusammensetzung des Nährbodens sehr empfindlich zu sein, da ein Konfluieren der einzelnen benachbarten Kolonien nicht stattfindet.

Sobald die Kolonien auf den Platten (Original und erste Verdünnung) eine gewisse Größe erreicht haben, steht das Wachstum still, obgleich noch eine breite Zone anscheinend unveränderten Nährbodens vorhanden ist. Auf Platten mit wenigen Keimen, wo sie also weit auseinander liegen, wachsen die isolierten Kolonien oft bis zu der Größe eines Hellerstückes aus. Diese Eigentümlichkeit scheint mir auf die Ausscheidung von Stoffwechselprodukten des *Bacillus* zurückzuführen zu sein, die auf dem Wege der Diffusion die ganze Nachbarschaft der Kolonie imprägnieren und so die Behinderung des Wachstums, wenigstens zum großen Teile, herbeiführen. Diese Diffusion von wachstumshemmenden Substanzen ist wohl auch der Grund, warum bei Verimpfung von Leichenmaterial auf Gelatine, Agar und den anderen festen Nährböden die einzelnen Kolonien stets voneinander isoliert wie kleine Tautropfen im Nährboden verbreitet sind und auch im Stadium



der vorgeschrittensten Entwicklung so bleiben. Dasselbe gilt auch von der Gelatinestrichkultur. Der Bacillus wächst auch in den tiefen Teilen des Stichkanals gut. An der Oberfläche der Stichkultur breitet die Kolonie sich um die Einstichöffnung aus, bildet eine knöpfchenförmige Erhabenheit, und nur die jungen Gelatinestrichkulturen sehen wegen der Zartheit der Auflagerung den Typhuskulturen ähnlich, ältere werden undurchsichtig, trocknen ein und schilfern sich in Schüppchen ab.

In Gelatinestich- und -strichkultur hat ebenso wie auf der ausgewachsenen Plattenkolonie die Kultur ein grau-weißliches Aussehen, ohne daß sich hier Kristalldrusen bilden. Auch bei tagelangem Wachstum zeigt sich keine Verflüssigung der Gelatine, die einzelnen Teile der Kolonie haften sehr fest aneinander, so als ob die Bacillen ineinander verfilzt wären, und so erklärt es sich auch, daß bei Entnehmen von Kultur mit der Platinnadel an dieser immer mehrere Krümel, wenn nicht die ganze Kolonieenscheibe haften bleiben. Das letztere ist beim Abimpfen junger Kolonien von der Gelatineplatte fast immer der Fall. Dieser Umstand erschwert auch die Anfertigung von Deckglasabklätschen, die nur von ganz frisch ausgewachsenen Kolonien gelingen. An solchen ist der Rand scharf abgegrenzt und meist nur eine oder zwei Reihen von Bacillen zu beobachten, welche mit ihrer langen Achse parallel zur Peripherie gelagert sind. Selten findet man dem Kolonienrande vorgelagerte Inseln, die dünn genug sind, um die einzelnen Bacillen deutlich erkennen zu lassen. Die Bacillen zeigen auch im Gelatineklatschpräparat die bipolare Färbung.

Auf Agar wächst unser Bacillus in der Kälte ebenso gut wie auf der Gelatine. Bei Brüttemperatur wächst auf der Fläche des schief erstarrten Agars längs des Impfstriches am 2. Tage die Kolonie in Form eines schmalen Streifens, der bei entsprechender Belichtung eine bläuliche Interferenzfarbe dünner Plättchen zeigt. Im Verlaufe der nächsten 24—48 Stunden verbreitert sich die Kolonie etwas, aber ohne je die Röhrchenwand zu erreichen. In den ersten 48 Stunden hat die Kultur ihrer Zartheit wegen eine ziemliche Ähnlichkeit mit einer gleichalterigen Typhuskultur. Später verdickt sich die Keimschicht, wird opaker und glänzender zum Unterschiede von den Gelatinekulturen, die, wenn sie auch noch so gut vor Feuchtigkeitsverlusten geschützt werden, bald trocken erscheinen und, wie erwähnt, einzelne Schüppchen von der Oberfläche abstoßen. Auf der Agarplatte (besonders auf der Blutserumagarplatte) entwickeln sich bei entsprechend geringer Keimzahl ganz ähnliche Scheiben, die wenig erhaben sind und in ihrem Entwicklungsverlaufe sich ganz gleich verhalten wie die oben geschilderten Agarstrichkulturen. Trotzdem die einzelnen Kolonieenscheiben ziemliche Dimensionen (Zwei-Hellerstück) annehmen können, fließen sie auch hier nicht ineinander. Die Bildung eines Kristallkranzes, wie auf der Gelatineplatte, fehlt hier vollkommen.

Die Ueberzüchtung von Gelatine auf Agar, besonders aber von Agar auf Agar, gelingt sehr leicht. Dabei nimmt aber, wie Tierversuche erkennen ließen, die Virulenz älterer Generationen beträchtlich ab. Ich will hier gleich einige Bemerkungen über diese Verhältnisse einschalten. Um die Abschwächung der Virulenz möglichst zu verhindern, stellte ich mir nach den in unserem Laboratorium üblichen Verfahren zur Virulenerhaltung und Steigerung unserer Cholerastämme einen Meerschweinchenagar auf folgende, kurz zu schildernde Art her. Die in großer Menge der Epidemie erlegenen Meerschweinchen wurden seziert, Brust und

Baucheingeweide entfernt und der Kadaver  $\frac{1}{2}$  Stunde lang im Dampftopfe sterilisiert. Nach der Abhäutung wurde das Fleisch in der üblichen Weise zur Agarbereitung verwendet. Auf derartig bereiteten Nährböden gediehen die Kulturen merklich besser und büßten ihre Virulenz nicht so rasch ein, wie auf gewöhnlichem Agar gezüchtete.

Auf Rinderblutserum wächst unser Bacillus nicht wesentlich besser als auf den bisher genannten anderen Nährböden, auch hier schießen die Keime nach 48 Stunden in Form von kleinen tröpfchenartigen Kolonien an.

Auf der Kartoffel wächst der Bacillus nur schwer. Erst nach einigen Tagen zeigt sich ein äußerst dünner, feiner Belag, der wegen Mangel einer charakteristischen Färbung schwer erkennbar ist. Diese Kultur auf der Kartoffelscheibe ist der Typhuskultur ähnlich und es ist dabei ganz gleichgültig, ob die Kartoffel eine saure, neutrale oder alkalische Reaktion besitzt.

Von den flüssigen Nährböden ist vor allem die Bouillon zu nennen. In ihr wächst der Bacillus zwar langsam, aber dem Anscheine nach viel länger weiter als auf den festen Nährböden. Die Bouillonkulturen auf alkalischer Bouillon zeigten nach 48 Stunden als erstes Anzeichen des Wachstums feine Schleier oder in der Flüssigkeit schwebende Nebel. Diese Schleier zerreißen leicht bei geringen Bewegungen des Kulturröhrchens, setzen sich dann nicht mehr zusammen und heben sich von der sonst klar gebliebenen Bouillon gut ab. Im weiteren Verlaufe des Wachstums senken sich die Schleier, trüben die unteren Schichten der Bouillon und bilden bei mehrtägigen Kulturen einen massigen, körnigen Bodensatz, der meist auch noch an den Wänden des Kulturröhrchens haftet. Ueber dem Sedimente klärt sich die Flüssigkeit rasch und vollkommen. Schüttelt man das Röhrchen, wobei der Bodensatz aufgewirbelt wird, bald aber wieder zu Boden sinkt, so bilden sich darüber in den nächsten 24 Stunden neuerliche Schleier. Diese „sekundären“ Schleier entsprechen neu entwickelten Kolonien und sind von etwa noch herumschwimmenden krümeligen alten Bacillenhäufen leicht zu unterscheiden. Den Bouillonkulturen nach 24 Stunden entnommene Bacillen zeigen, im hängenden Tropfen untersucht, Eigenbewegung.

Peptonwasserkulturen haben ganz ähnliche Erscheinungen wie die Bouillonkulturen, nur zeigt sich hier ein spärlicheres Wachstum.

Milch ist ein sehr geeignetes Nährsubstrat. In ihr entwickeln sich die Bacillen sehr gut, dabei wird aber die Milch weder zur Gerinnung gebracht, noch in ihrer Reaktion verändert.

Auf Lackmusmolke gezüchtete Bacillen führen keine Veränderung des neutralen Farbertones derselben herbei.

Gasbildung konnte ich an den Kulturen nie, weder in den festen Nährböden, noch in den Bouillonkulturen der Gärungskölbchen beobachten.

Die Vegetation unseres Bacillus ist außerhalb des Tierkörpers, wie erwähnt, leicht zu erhalten, nur die Pathogenität nimmt sichtlich von Generation zu Generation ab. Nach 8—10 Ueberimpfungen ist die Virulenz schon beträchtlich gesunken und man muß schon verhältnismäßig große Bacillennengen in den Meerschweinchenkörper einbringen, damit eine tödliche Infektion eintrete. Nach mehreren Tierpassagen erhält man aber wieder Kulturen, von denen kleinste Mengen (eine kleine Oese) genügen, um das Tier zu töten. Die Virulenz des

*Bacillus* nimmt also auf künstlichen Nährböden sehr rasch ab, läßt sich aber durch Tierpassagen wieder auf die frühere Höhe bringen, wobei die Verwendung des aus dem Fleische der gefallen Tiere bereiteten Nährgärs wegen Ersparung an Tieren und Zeit gute Dienste leistet. Diese Empfindlichkeit des *Bacillus* gegen künstliche Nährböden, also gegen ektogenes Wachstum und Erhaltung von Vegetationskraft und Energie außerhalb des Tierkörpers manifestierte sich auch im Verlaufe der unter unseren Zuchttieren aufgetretenen Epidemie. Die so energisch einsetzende Krankheit verlösch ohne unser Zutun sehr rasch. Wir hatten die erkrankten Tiere, soweit sie durch Palpation erkennbar waren, in einer abgetrennten Abteilung, aber in demselben Stallraume gelassen. Diese Isolierung hätte gewiß nicht genügt zum Verlösch der Epidemie, denn abgesehen davon, daß die erkrankten Tiere in demselben Raume, nur durch eine Holzwand getrennt, mit Hunderten von anscheinend gesunden Meerschweinchen, Ratten, Kaninchen, Mäusen und einer Ziege zusammen gehalten wurden, war es ja ganz unmöglich, alle erkrankten Tiere sicher herauszufinden. Wir hatten eben nur solche von den anderen abgeschieden, bei denen deutliche Tumoren im Abdomen tastbar waren, wir hatten also entschieden einige, vielleicht viele zurückgelassen, die mit einer Infektion behaftet waren, die jedoch mit dieser rohen Art der Diagnose nicht als krank erkannt werden konnten. Einige Sektionen anscheinend gesunder Meerschweinchen, die zu anderen Versuchen verwendet wurden, erhärteten diese Annahme. Trotz dieser primitiven Schutzmaßregel und ohne unser weiteres Zutun nahm die tägliche Sterblichkeit nach einiger Zeit von Tag zu Tag mehr ab, bis die Seuche nach beiläufig 6 Wochen gänzlich erloschen war.

Was für dieses rasche Erlöschen der Seuche das Maßgebende war, vermag ich nicht anzugeben, es ist jedoch Erfahrungstatsache, daß viele der Gruppe der „hämorrhagischen Septikämie“ (derjenigen Gruppe, in die auch dieser *Bacillus* jedenfalls einzureihen ist) angehörenden *Bacillen* ein ganz ähnliches Verhalten zeigen. Einigen Aufschluß über die erwähnten Erscheinungen geben Versuche, die mit den verschiedenen Kulturen angestellt wurden. Außer dem spontanen Virulenzrückgang bei Ueberzüchtung von Röhrchen auf Röhrchen erscheint auch das Wachstum beeinträchtigt durch die Abnahme des Feuchtigkeitsgehaltes des Nährsubstrates. Die in dem vorigen sehr heißen Sommer unternommene Untersuchung litt manchmal durch die Austrocknung der unter dem gewöhnlichen Watteverschluß gehaltenen Kulturröhrchen. In älteren Agarröhrchen, deren Kondenswasser schon fast vollständig verdampft oder aufgesogen war, gingen die verimpften Keime merklich schlechter und kümmerlicher an. Dasselbe war der Fall, wenn man von älteren Kulturen, die damals gut angegangen waren, überimpfte und den 24-stündigen Ableger dann auf Meerschweinchen überimpfte. Dieselben überstanden zum größten Teile die Infektion.

Austrocknung scheint daher auf die biologischen und pathogenen Eigenschaften des *Bacillus* sehr schädigend einzuwirken und damit einen Faktor von nicht unwesentlicher Bedeutung in der Reihe derjenigen Umstände abzugeben, die ein Selbsterlösch einer derartigen Epidemie bedingen oder doch wenigstens erklärlich machen. Andererseits gibt die geringe Resistenz des *Bacillus* gegen Austrocknung die Berechtigung zu der Annahme, daß er in unserer Umgebung im Freien bald zu Grunde gehe, und insofern eine Staubinfektion nicht möglich oder wenigstens

schwer denkbar ist. Ob ein Wechsel von Trockenheit und Feuchtigkeit noch schädigender einwirkt, wie Ficker<sup>1)</sup> in seiner Arbeit über Lebensdauer und Absterben von pathogenen Keimen für den Pestbacillus festgestellt hat, ist nicht weiter verfolgt worden.

Ebenso wie gegen Austrocknung sind diese Bacillen gegen das Sonnenlicht sehr empfindlich. Kulturen, die demselben 2 Tage lang ausgesetzt waren, hatten ihre Virulenz ganz, ihr Wachstum sehr erheblich eingeüßt.

Gegen Kälte sind die Bacillen sehr wenig empfindlich. Kulturen, die durch 3 Tage bei 6—8° C gehalten wurden, zeigten unvermindertes Wachstum und volle Virulenz.

Ebenso wie die Austrocknung, tötet trockene und feuchte Hitze die Bacillen leicht und schnell. Einstündiges Erhitzen der Kulturen auf 75° C vernichtet sie in der Regel, jedenfalls geht ihre Virulenz dabei immer verloren. Auf sterilen Deckgläsern angetrocknete Bacillen zeigten nach einstündigem Erhitzen, wieder auf Agar gebracht, kein Wachstum mehr. Im strömenden Dampfe von ca. 98° C sterben die Keime rasch ab.

### Pathogene Wirkung auf Tiere.

Gleich nachdem ich die erste Reinkultur erhalten hatte, überimpfte ich dieselbe auf Meerschweinchen, um die Gewißheit zu bekommen, daß der durch Züchtung gewonnene Bacillus auch wirklich der Erreger dieser Erkrankung ist. Nach 6 Tagen erhielt ich bei der Obduktion der eingegangenen Tiere die Bestätigung. Die Tiere zeigten die gleichen pathologisch-anatomischen Bilder wie die spontan verendeten Tiere. Aus den künstlich infizierten Meerschweinchen war wieder leicht derselbe Bacillus mit allen seinen biologischen Eigentümlichkeiten zu züchten. Um nun die pathogene Wirkung genauer und ohne Einmischung irgendwelcher Fehlerquellen besser studieren zu können, machte ich meine weiteren Infektionsversuche, durch die Liebenswürdigkeit des Herrn Hofrats Prof. Dr. Eppinger unterstützt, im pathologisch-anatomischen Institute, um sowohl zu diesem Zwecke andere Lokalitäten, als auch insbesondere anderes Tiermaterial zu haben, das einerseits in seiner Wartung und Stallung, als auch in seiner Fütterung von den Tieren unseres Institutsgebäudes, räumlich genügend getrennt, eine spontane Infektion von vornherein ausschloß. Vor allem versuchte ich in einer Reihe von Versuchen, den Meerschweinchen den Bacillus auf den verschiedenen Infektionswegen beizubringen. Dabei haben sich die intraperitoneale, subkutane, intrastomachale und intravenöse Applikation als die zuverlässigsten Infektionsarten erwiesen. Um nur Beispiele aus den einzelnen Versuchsreihen anzuführen, gebe ich hier einzelne Experimente wieder.

1) Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXIX. 1898.  
(Schluß folgt.)

*Nachdruck verboten.*

## Der Bakteriengehalt der Nase bei den Infektionskrankheiten, mit besonderer Berücksichtigung der Meningitis cerebro- spinalis epidemica.

[Aus der bakteriologischen Abteilung des Operationskursus für Militärärzte (Oberstabsarzt Prof. Dr. Dieudonné) und der Ohrenstation des Garnisonlazarett's München (Stabsarzt Dr. Hasslauer).]

Von Stabsarzt Dr. **Hasslauer**, München.

(Schluß.)

Nicht nur bei den Meningitiskranken selbst, sondern noch vielmehr bei den Gesunden, in der Umgebung der Meningitiskranken wurde der Meningococcus in der Nase und dem Rachen festgestellt, sowohl auf den sehr häufig miterkrankten Schleimhäuten der Nase und des Rachens als auch im gesunden Zustande dieser Abschnitte. Jaeger hat als der erste den Nachweis erbracht, daß es wie bei Diphtherie, Pest und Cholera so auch bei Genickstarre sogenannte Infektionsträger gibt, die, ohne selbst zu erkranken, den Erreger der Genickstarre in ihrem Nasenschleim mit sich herumtragen und so eine oft lange verborgene Quelle der Uebertragung bilden. Seitdem darauf das Augenmerk gelenkt war, sind ausgedehnte Untersuchungen in dieser Richtung vorgenommen und zahlreiche sogenannte Infektionsträger festgestellt worden. Leider krankten diese Untersuchungen anfangs an dem früher erwähnten Fehler, daß nur mikroskopisch untersucht wurde, weshalb diese Untersuchungen nicht beweiskräftig sind; denn in diesen Fällen konnte es sich ebenso gut nur um den Microc. catarrh. handeln. Nachdem aber spätere kulturelle Untersuchungen das Vorhandensein des Meningococcus auf der Nasenschleimhaut ergeben haben, war man in der Aetiologie der Genickstarre einen Schritt weiter.

Die Untersuchungen v. Lingelsheims, Ostermanns und Westenhöffers haben gezeigt, daß in Genickstarreepidemien nicht nur bei den Meningitiskranken, sondern noch vielmehr bei den in der Umgebung der Kranken befindlichen Personen sich eine weitverbreitete katarrhalische Erkrankung der oberen Luftwege, besonders der Nase und des Nasenrachenraumes, findet, ferner, daß in einem Teil der Meningitiskranken wie der Personen aus der Umgebung sich Meningokokken in der Nase finden, ohne daß von der letzteren jemand an Meningitis erkrankte. Es fanden sich aber auch sehr viele Leute, die trotz starker katarrhalischer Erkrankung der oberen Luftwege den Meningococcus nicht aufwiesen, andererseits solche, die bei normalen oberen Luftwegen doch Kokkenträger waren, wie in meiner Untersuchungsreihe sich ebenfalls ein Fall findet. Des weiteren haben meine bakteriologischen Untersuchungen des Naseninneren bei den anderen Infektionskrankheiten ergeben, daß in fast allen Fällen die oberen Luftwege katarrhalisch erkrankt waren, also durchaus nicht allein bei der Genickstarre. Es fanden sich bei den einzelnen Gruppen bald der eine bald der andere Erreger im Uebergewicht, doch haben sich für die Aufstellung einer spezifischen Rhinitis oder Rhinopharyngitis keine bestimmten Anhaltspunkte ergeben. Ob deshalb Ostermann berechtigt ist, von einer Meningokokkenangina bzw. Pharyngitis zu reden, dürfte doch nicht so sicher sein, selbst in

den Fällen, wo er positiven Kokkenbefund hat. Neumann und Todd haben im Schnupfensekret von Kindern aus der Umgebung diphtheriekranker Kinder, die aber selbst nicht an Diphtherie erkrankten, vollvirulente Diphtheriebacillen nachgewiesen. Der Schnupfenverlauf war der eines einfachen Schnupfens, weder im Hals, Rachen oder der Nase selbst fand sich ein diphtheritischer Belag. Gleichwohl erklären Neumann und Todd diese Rhinitis mit positivem Bacillenbefund als Nasendiphtherie, Rhinitis diphtherica ohne Membranbildung. Gegen diese Auslegung nimmt Ballin mit Recht Stellung. Er kommt auf Grund seiner Untersuchungen wohl zu dem Schluß, daß Diphtheriebacillen beim gewöhnlichen Schnupfen etwas Ungewöhnliches sind, ferner finden sich die Diphtheriebacillen nur bei Individuen, die längere Zeit in der Umgebung von Diphtheriekranken oder mit Diphtheriebacillen Behafteten sich aufgehalten haben. Klinisch jedoch verläuft ein derartiger Schnupfen wie ein gewöhnlicher Schnupfen und wird durch Serum in seinem Verlauf in keiner Weise beeinflusst. Der Schnupfen wird also nicht durch Diphtheriebacillen hervorgerufen; die bei ihm gefundenen Bacillen sind vielmehr nur Schmarotzer und ihr Vorkommen auf der Nasenschleimhaut ist mit dem Vorkommen von Diphtheriebacillen auf den Rachenorganen Gesunder, von wo aus die Verbreitung von Diphtherie sich nachweisen läßt, auf eine Stufe zu stellen.

Nicht anders ist es bei dem bacillenhaltigen Schnupfen, der im Verlauf der Genickstarre sich findet. Der Meningococcus kann sich auf der gesunden und der katarrhalisch erkrankten Nasenschleimhaut finden, ohne daß meningitische Erscheinungen vorhanden sind, doch findet er sich nur in einem Teile der katarrhalisch erkrankten oberen Luftwege und dann nur bei solchen Personen, die mit Genickstarrekranken in Berührung gekommen waren. Bei Gesunden oder anderweitig Erkrankten, die in epidemiefreien Zeiten untersucht wurden, oder bei Gesunden, die mit Genickstarrekranken in keinerlei Berührung gekommen waren, haben noch nie Meningokokken nachgewiesen werden können, auch meine 20 Kontrolluntersuchungen haben ein negatives Resultat ergeben. Die Zahl der Meningokokkenträger in Epidemiezeiten ist im Verhältnis zur Zahl der Untersuchten eine sehr kleine, daraus läßt sich jedoch nur schließen, daß das in Betracht kommende Bakterium kein vulgärer Entzündungserreger und auch nicht zu den ständigen Bewohnern der normalen und entzündeten Nasenrachenschleimhaut gehört. Die subjektiven Beschwerden bei der Meningokokkenrhinitis bezw. Pharyngitis sind nicht größer wie bei jedem einfachen Schnupfen, ein klinisches Bild einer spezifischen Meningokokkenrhinopharyngitis gibt es nicht, die in den verschiedenen Schnupfenfällen gefundenen Kokken sind also als zufällige Schmarotzer anzusehen und ihr Vorkommen ist mit dem Vorkommen der Meningokokken auf der gesunden Schleimhaut gleichzustellen. Die Berechtigung zur Aufstellung einer Meningokokkenrhinopharyngitis besteht also nicht. Die häufige Beteiligung der oberen Luftwege bei der Genickstarre in Form katarrhalischer Erkrankungen, bei denen nur in einem verhältnismäßig kleinen Teil die Meningokokken gefunden werden, steht vielmehr auf gleicher Stufe mit den alle Infektionskrankheiten begleitenden akuten Mittelohrentzündungen, die keineswegs spezifischer Natur sind. Hier wie dort bilden die Mittelohrentzündungen bezw. Rhinitiden eine Begleiterscheinung der Hauptkrankheit und werden von allen möglichen Erregern, die auch auf der gesunden Paukenschleimhaut bezw. Nasenschleimhaut vorkommen, veranlaßt, deshalb werden auch in

allen die Genickstarre begleitenden Katarrhen der oberen Luftwege nicht nur Meningokokken, sondern alle möglichen Erreger gefunden.

Wie aus unseren und den Fällen der anderen Untersucher hervorgeht, ist dieses Schmarotzertum meist ungefährlich für den Träger. wenigstens ist keiner der Meningokokkenträger später an Genickstarre erkrankt, aber nicht immer. Die Möglichkeit einer früheren oder späteren Erkrankung ist nicht auszuschließen, ebenso aber auch kann ein anderes empfänglicheres Individuum von dem gesund bleibenden Zwischenträger infiziert werden. Bei diesen Kokkenträgern finden sich die Meningokokken sehr reichlich und können sich lange Zeit halten. Durch Kontakt oder beim Sprechen, Husten, Niesen verspritzte Tröpfchen wird dann die Weiterverbreitung auf andere Gesunde besorgt. Bei den Meningitiskranken selbst finden sich die Kokken viel spärlicher, in späteren Krankheitstagen überhaupt nicht mehr. Die geringen Beschwerden, die ein Kokkenträger von seiner Rhinopharyngitis hat, zeigen eigentlich erst die große Gefahr der Uebertragung, denn in dem Verkehr mit seiner Umgebung sieht er sich wegen seines Schnupfens zu einer Zurückhaltung nicht veranlaßt. In diesem Punkte also, daß die Kokkenträger die eigentliche Quelle der Uebertragung der epidemischen Genickstarre sind, stimmen wir mit den übrigen Untersuchern überein.

Die positiven Bakterienbefunde in der Nase der Meningitiskranken, der Beobachtungsfälle und der Gesunden beweisen die Bedeutung der Nase als Eingangs- und Ausgangspforte für die Meningokokken (Jaeger) und gleichzeitig die spezifisch-ätiologische Bedeutung der Meningokokken, denn diese werden nur zu Epidemiezeiten in der Nase gefunden und nur bei Leuten, die in der Umgebung Genickstarrekranker sich finden. Bei meinen 20 Kontrollpersonen, die mit Meningitiskranken in keinerlei Berührung gekommen waren, fand sich kein einziger Kokkenträger, trotzdem ein großer Teil Katarrh der oberen Luftwege aufwies. Man findet meningokokkenähnliche, aber nicht mit ihnen identische Arten. Der *Meningococcus* hat sich nach v. Lingelsheim immer mehr als ein wohldefiniertes, von den mehr oder weniger ubiquitären ähnlichen Formen verschiedenes und an die Krankheit gebundenes Agens erwiesen. Anfangs sind die Meningokokken im Nasenrachensekret im Uebergewicht, treten jedoch bald zurück und werden von anderen Erregern überwuchert. Dies wird wohl auch der Grund sein, daß der *Meningococcus* in den vorderen Abschnitten der Nase nur selten gefunden wird, dagegen meist in den hinteren Abschnitten der Nase und dem Nasenracherraum.

Bei meinen früheren Untersuchungen entnahm ich meine Proben aus den vorderen Abschnitten der Nase und fand hierbei eine ziemlich starke Bakterienflora und vor allem ein massenhaftes Wachstum auf den angelegten Kulturen, ein Beweis, daß die vorderen Partien der Nase aus dem vorbeistreichenden Luftstrom die meisten Keime auffangen. Die jetzigen Untersuchungen ergaben auffallend wenig Wachstum, und was gegen die früheren Untersuchungen besonders absticht, nur in einigen wenigen Fällen den *Pseudodiphtheriebacillus*, der also in die tieferen Nasenpartien gar nicht gelangt. Unter dieser zahlreichen Flora kommt dann der *Meningococcus* mit seinen besonderen Wachstumsbedingungen selbstredend nicht auf. Daß der *Meningococcus* kein alltäglicher Bewohner der Nasenhöhle ist und nur zu Epidemiezeiten und auch dann nur bei den Meningitiskranken und solchen Leuten gefunden wird, die mit Genickstarrekranken in direkter Berührung standen,

zeigt sehr deutlich unsere kleine Epidemie. Von den 9 Kokkenträgern stammen allein 7 aus dem Zimmer, aus dem 2 Genickstarrefälle zugehen, und zwar lagen dieselben bis auf 2 in direktester Nähe der Kranken, die beiden anderen Kokkenträger kamen ebenfalls aus einem Zimmer, aus dem ein Meningitisfall stammt. Und daß der Meningococcus nicht eine Rhinitis erzeugt, geht daraus hervor, daß allein 3 von den Kokkenträgern keinerlei Krankheitserscheinungen aufwiesen, sondern normale obere Luftwege hatten. Der Meningococcus scheint in der Nase also wie andere pathogene Keime nur unter gewissen, uns noch nicht bekannten Verhältnissen, krankheitserregend zu wirken, analog den akuten Mittelohrentzündungen im Verlaufe der Infektionskrankheiten.

Solange wir die Aetiologie der genuinen wie sekundären Rhinitis nicht einwandfrei festzustellen im stande sind, können wir nicht behaupten, daß der Meningococcus eine Rhinitis zu erzeugen vermag, das wird auch nicht durch den öfter als Beweis zitierten Fall Kiefers erhärtet. Dieser hat wohl in dem Eiter seiner Rhinitis den Meningococcus nachgewiesen, damit ist aber nicht gesagt, daß dieser die Rhinitis erzeugt hat. Er hat ungefähr eine Woche lang kulturell mit dem Meningococcus gearbeitet und kann hierbei die Kokken durch Einatmung auf seine Nasenschleimhaut überimpft haben. Bei der nun durch uns nicht näher bekannten Verhältnisse entstandenen Rhinitis hat der zufällig auf der Nasenschleimhaut anwesende Meningococcus ein günstiges Feld zu seiner Vermehrung gefunden. Wir haben hier das gleiche Verhältnis, wie in den Fällen Neumanns, bei denen der erste Diphtheriebacillus bei einem gewöhnlichen Schnupfen gefunden wurde bei Kindern aus der Umgebung Diphtheriekranker. Auch hier die Erscheinungen eines einfachen Schnupfens ohne besondere Krankheitsmerkmale mit positivem Bacillenbefund.

Wie die Entstehung der Genickstarre zu erklären ist, darüber herrscht ebenfalls noch ziemliches Dunkel und sind wir mehr oder weniger auf Hypothesen angewiesen. Nehmen wir auf Grund unserer und aller anderen Untersucher die Nase und den Mund als die Eintrittspforte der Krankheitserreger an, woran wohl kaum zu zweifeln sein wird, so wissen wir aber noch nicht, unter welchen Bedingungen und auf welchem Weg der Erreger zur Genickstarre führt. Vor allem erkrankt nur ein kleiner Teil der der Infektion ausgesetzten Personen, die zahlreichen Kokkenträger erkrankten alle nicht an Meningitis. Den günstigsten Boden für eine bakterielle Invasion gibt unzweifelhaft der lymphatische Ring der oberen Luftwege ab; für diese Eintrittspforte spricht allein der Umstand, daß die Genickstarre hauptsächlich eine Kinderkrankheit ist und daß nach den Untersuchungen Westenhöffers fast nur Kinder mit skrofulösem Habitus und lymphatischer Konstitution erkranken. Dieser Autor hat auch durch zahlreiche sorgfältige Obduktionen festgestellt, daß der Infektionsweg mit großer Wahrscheinlichkeit durch den Keilbeinkörper oder auf den Gefäßwegen geht, welche aus dem Nasenrachensraume an der Sella turcica vorbeiführen, vielleicht spielen auch die Canaliculi carotico-tympanici eine Rolle. Er hat in 10 Fällen eine Entzündung der Keilbeinhöhle festgestellt, von wo aus die Infektion durch ein Vas nutricus in die Schädelhöhle gelangt sein kann. Bei seinen histologischen Untersuchungen stellte er eine perihypophyseale Eiterung fest, jedoch nicht allein bei an Genickstarre Verstorbenen. Er kann sich auf Grund seiner Untersuchungen weder für



eine lymphogene noch hämatogene Entstehung entscheiden, bringt Gründe für beide Entstehungsarten und neigt schließlich mehr für die hämatogene Entstehung, doch, wie schon eingangs erwähnt, kann ein unumstößlicher Beweis dafür nicht erbracht werden. Wo und wie die Keime in den Kreislauf gelangen, konnte noch nicht festgestellt werden, wohl aber sind die Meningokokken im Kreislauf schon in wenigen Fällen nachgewiesen worden, so von Weichselbaum und Ghon bei einer Endocarditis, Jakobitz in 2 Fällen, bei denen in der Nase die Untersuchung negativ ausfiel und auch von unseren Fällen konnten 4mal die Meningokokken kulturell im Blut festgestellt werden, darunter in einem Fall, bei dem im Nasensekret diese fehlten. In einem Falle fanden sich die Meningokokken außer im zirkulierenden Blut auch im Eiter eines Karbunkels, wo sie mit Sicherheit durch Kulturverfahren und Serumiagnose festgestellt wurden. Sie können also auch wie Streptokokken und Pneumokokken zu einer lokalen Eiterung führen. Nach längerer Krankheitsdauer und in der Rekonvaleszenz fanden sich die Kokken nicht mehr, weder im Blute noch in der Lumbalflüssigkeit. Dieudonné empfiehlt für diagnostische Zwecke die bakteriologische Untersuchung des Blutes sehr, weil ein Ueberwuchern durch andere Keime nicht stattfindet und die aus dem Blute gezüchteten Meningokokken kräftiger auf den Serumagarplatten wachsen. Dagegen ist die Züchtung aus der Nase oft schwer, da die langsam und schwach wachsenden Meningokokken durch andere Bakterien, namentlich Staphylokokken, überwuchert werden. Wir konnten öfters nach 24 Stunden nur Staphylokokken auf den Kulturen nachweisen, erst nach 2—3 Tagen zeigte sich erst ein ganz feines, kaum sichtbares Wachstum von Meningokokken. So kann die Züchtung aus der Nase oft negativ scheinen, ist es aber doch nicht, denn in der Nase findet sich der spezifische Erreger sehr häufig, hält sich aber dort nicht lange, in wenigen Fällen nur längere Zeit.

Die mikroskopische Untersuchung geschah in unseren Fällen mit Hilfe der Mayschen Färbung (eosinsaurem Methylenblau), wobei sich die dunkelblau gefärbten Kokken von dem rötlichen Serum der Leukocyten deutlich abhoben. Wo sich intracelluläre Diplokokken und Tetradenbildung fand, wurde die Gramsche Färbung gemacht, die stets zur Entfärbung führte. Zur Kultur wurden Blutserumagarplatten, Ascitesagar und Löffler-Serum verwendet. 10mal bestätigte die Kultur die mikroskopische Untersuchung nicht, 4mal davon handelte es sich um den *Micrococcus catarrh.*, R. Pfeiffer, 1mal um den *Streptococcus mucosus*, die übrigen Kulturen ergaben keine meningokokkenähnlichen Mikroorganismen. Die von allen Untersuchern betonte Behauptung, daß die mikroskopische Diagnose nicht genügt, besteht also zu Recht.

Wohl ist die Diagnose der Meningokokken schon nach dem Aussehen der Kultur möglich, doch läßt auch die Kultur für eine sichere Differenzierung noch Zweifel. Deshalb wurden die von uns erhaltenen mittels eines Immunserrums, das durch dreimalige Injektion abgetöteter Kulturen bei Kaninchen gewonnen worden war, sowie auch mit einem hochwertigen Serum vom Institut für Infektionskrankheiten und schließlich einem Serum der Firma Merck näher geprüft und nur solche Kulturen, die in einer Serumverdünnung von 1:100 bis 200 agglutiniert wurden, als Meningokokken anerkannt. Außerdem wurde auch teilweise das von den Kranken gewonnene Blut zur Serodiagnose verwendet und zeigten 3 von 6 Fällen Agglutination mit echten Meningokokken. Jaeger

wies als der erste nach, daß es mit Hilfe der Agglutination möglich ist, zweifelhafte Stämme zu identifizieren. Das zur Agglutination verwendete Serum muß ein spezifisches sein, d. h. nur den Meningococcus agglutinieren. Ostermann hält die Agglutination mit einem spezifischen Serum zur endgültigen Diagnose bei dem zahlreichen Vorkommen meningokokkenähnlicher Mikroorganismen in Nase und Rachen für völlig unerlässlich. Auch v. Lingelsheim hält die Agglutination für entscheidend für die Ätiologie des Meningococcus, sie muß aber mit Vorsicht und immer unter Kontrolle normalen Serums angewendet werden. Jakobitz spricht nur der Kultur und der Agglutination, und zwar nur dem positiven Ausfall dieser in höherer Verdünnung eine sichere Entscheidung über die Art der gefundenen Mikroorganismen zu. Nach Flügge sind spezifisch agglutinierende Eigenschaften des Blutes der Kranken und Rekonvaleszenten gegenüber den Meningokokken, die eine ätiologische Bedeutung des Coccus entscheiden würden, wohl festgestellt, doch sei das noch keine Sicherheit dafür, daß die agglutinierenden Kokken die Erreger der Krankheit sind. Und auch v. Lingelsheim, Kirchner, Westenhöffer sind trotz ihrer zahlreichen positiven Befunde Zweifel darüber aufgestiegen, ob wohl der wirkliche Krankheitserreger sicher gefunden ist. Weichselbaum wendet sich gegen die Zweifel dieser Untersucher und sieht den Beweis, daß der Meningococcus der Erreger der Genickstarre ist, als längst erbracht an.

Zum Schluß erübrigt nur noch, die Art der Entnahme, die eine sichere Gewähr dafür bietet, daß der gefundene Erreger auch von dem vermuteten Infektionsherd sicher stammt, zu besprechen.

Ostermann und Flügge entnahmen mit Watte umwickelten Sonden vom Mund aus ihre Proben aus dem Nasenrachenraum, v. Lingelsheim will die Proben von der Nase aus entnommen haben. Diese Untersucher kamen auf Grund ihrer Resultate zu dem Schluß, daß der Hauptsitz der Meningokokken der Nasenrachenraum ist. Meyer betrachtet speziell die Rachentonsille als den eigentlichen Vermittler auf dem Wege zur Schädelhöhle. Doch findet auch er Fälle, wo das klinische Bild sowohl wie die bakteriologische Untersuchung absolut keinen Anhaltspunkt für den Einbruch der Entzündungserreger durch den Nasenrachen geben. In diesen Fällen sucht er eine andere Infektionspforte und zwar mit Radmann im Darmtraktus. Vom Nasenrachenraum aus gehen die Kokken nach vorn bis in die hinteren Partien der Nase, nach abwärts auf die ganze Pharynxwand. In den vorderen Partien der Nase sollen die Meningokokken schnell zu Grunde gehen infolge austrocknender Einflüsse. Nach Ostermann stammen die positiven Resultate von den Tonsillen daher, daß die Keime bei der vorhergehenden Rachenentnahme mit heruntergewischt worden sind. Bei der Entnahme von der Nase aus komme man nur auf einen kleinen begrenzten Teil der hinteren oberen Wand und wische den entnommenen Schleim beim Zurückziehen in den Muscheln und am Septum ab.

Warum die genannten Autoren den Nasenrachenraum allein für den Hauptsitz der Meningokokken erklären und warum von dort aus die Kokken nach vorne in die Nase und nach unten in den Rachen sich fortbewegen sollten, ist nicht recht erklärlich. Entsprechend der Auffassung der Genickstarre als Inhalationskrankheit gelangen doch die Kokken mit dem Luftstrom zuerst in die Nase oder den Rachen und verbreiten sich von da aus zum Nasenrachenraume aus, dort allerdings den günstigen Boden zur Vermehrung findend. Warum sollten also

an diesen vom bakterienhaltigen Luftstrome zuerst bestrichenen Abschnitte sich nicht auch Meningokokken finden und warum müssen dieselben erst bei der Entnahme aus dem Nasenrachenraume gelegentlich des Herausziehens der Sonde dorthin gelangt sein? Daß an den vorderen Nasenpartieen die Kokken von anderen widerstandsfähigeren Keimen schnell überwuchert und verdrängt sind, habe ich oben schon entwickelt. Wie kann bei der geschilderten Entnahme mit Wattesonden behauptet werden, daß die gefundenen Meningokokken nur allein aus dem Nasenrachenraume stammen. Wie schwierig es in den meisten Fällen ist, mit einer Wattesonde in einen noch dazu entzündeten Nasenrachenraum und unter Spiegelbeleuchtung an eine bestimmte Stelle zu gelangen, weiß wohl jeder Rhinologe. Können nicht schon beim Eingehen Mikroorganismen von den hinteren und seitlichen Rachenpartieen mit in den Nasenrachenraum hinaufgenommen werden, wohl ebenso leicht wie sie beim Herausziehen abgewischt werden können? Das Gleiche trifft für die Nase noch viel mehr zu, die im katarrhalischen Zustand meist sehr verengt ist. Eine einwandfreie Sekretentnahme aus dem Nasenrachenraum, von der man bestimmt behaupten kann, daß sie von dort stammt, könnte also nur unter Spiegelbeleuchtung mit den größten Schwierigkeiten entnommen werden, noch schwieriger gestaltet sich die Entnahme bei einem schweren Genickstarrekranken. Ich habe deshalb bei meinen Untersuchungen die Entnahme von der Nase aus vorgenommen, indem ich die ausgeglühte Platinöse unter Spiegelbeleuchtung in den Nasenrachenraum vorschob und ebenso vorsichtig zurückging. In vielen Fällen gelang mir die einwandfreie Entnahme aus dem Nasenrachenraum, wie ich feststellen konnte. Ich konnte nämlich bei nachfolgender Spiegeluntersuchung des Nasenrachenraums an der succulenten entzündeten Schleimhaut des Rachendaches leicht blutende Stellen sehen und zwar an zwei Stellen entsprechend der beiderseitigen Entnahme. In zahlreichen anderen Fällen aber machten es die pathologischen Verhältnisse der Nase unmöglich, selbst mit der Platinöse bis zum Nasenrachenraum zu kommen, ohne Teile der Nasenschleimhaut zu berühren. Ich legte dem auch keine besondere Bedeutung bei, weil ich annahm, daß die gesamten oberen Luftwege als Eingangsporte in Betracht kämen, von deren Oberfläche aus die Aufnahme in den Körper erfolge, gleichviel von welcher Stelle. Auch bei der therapeutischen Bekämpfung der Genickstarre, sei es daß die Meningokokken der oberen Luftwege durch Spülungen oder Pulvereinblasungen unschädlich gemacht werden sollten, kommen stets die gesamten oberen Luftwege in Betracht, nicht nur der Nasenrachenraum allein, weil man nicht wissen kann, wie weit nach vorne in die Nase oder nach unten in den Rachen die Bakterienherde sich erstrecken.

Bei der Bekämpfung der Genickstarre wurde bei unserer Epidemie außer der Isolierung der Kranken und Kokkenträger an sämtliche Mannschaften des infizierten Truppenteils ein Schnupfenpulver, bestehend aus Zinc. soziodolicum, Menthol und Borpulver verabreicht, um eine Abtötung der auf der Nasenschleimhaut befindlichen Infektionserreger und hauptsächlich eine Heilung der in dieser Jahreszeit (Februar) weitverbreiteten Erkrankungen der oberen Luftwege zu erzielen. Bei den Meningitiskranken und Kokkenträgern selbst wurde das Pulver mittels Pulverbläfers in die Nase eingeblasen, um dasselbe auch in den Nasenrachenraum zu bringen.

Die Kokkenträger wurden so lange abgesondert gehalten, als Meningo-

kokken sich auf der Nasenschleimhaut fanden, erst wenn wiederholte bakteriologische Untersuchungen negativ ausgefallen waren, wurden sie entlassen. Ob diese prophylaktischen Pulvereinblasungen ihre Schuldigkeit taten, kann vorläufig nicht bewiesen werden, aber so viel steht fest, daß nach Absonderung der aus den Meningitiszimmern festgestellten Kokkenträger ein weiterer Fall von Genickstarreerkrankung nicht mehr auftrat.

Aus unseren bakteriologischen Nasenuntersuchungen ergeben sich folgende Schlüsse:

1) Die Mehrzahl der mit dem Einatmungsluftstrom in die Nase gelangten Krankheitserreger wurden in den vorderen Abschnitten der Nase aufgehalten, während der Bakteriengehalt in den hinteren Abschnitten ein verhältnismäßig geringer ist.

2) Insbesondere die Saprophyten finden sich in den vorderen Teilen der Nase (*Pseudodiphtheriebacillen*, *Subtilis* etc.).

3) Analog den die akuten Infektionskrankheiten begleitenden akuten Mittelohrentzündungen beteiligt sich auch die Nasenrachenschleimhaut an der Hauptkrankheit fast durchgehends in Form katarrhalischer Erkrankungen; es gibt also eine genuine, primäre und eine sekundäre Rhinitis bezw. Rhinopharyngitis.

4) Ein spezifischer Erreger der genuinen wie sekundären Rhinitis konnte nicht gefunden werden. Besonders bei der Lungenentzündung stand der *Diplococcus* im Vordergrund, beim akuten Gelenkrheumatismus der *Staphylococcus* (8 Fälle).

5) Eine spezifische Rhinitis, d. h. eine allein durch den Krankheitserreger der betreffenden Infektionskrankheit erzeugte Rhinitis konnte nicht festgestellt werden, vielmehr zeigte sich durchgehends nur das Bild eines gewöhnlichen Schnupfens.

6) Nur in einem Teile der Genickstarrefälle und der Beobachteten fand sich der *Meningococcus* auf der Nasen- und Rachenschleimhaut, darunter auch auf der gesunden Nasenschleimhaut, der *Meningococcus* erzeugt also keine Rhinitis. Umgekehrt fehlte er oft trotz starker katarrhalischer Erkrankung der oberen Luftwege.

7) Der *Meningococcus* findet sich nur bei Genickstarrekranken oder Gesunden aus nächster Nähe der Erkrankten, nicht aber bei Gesunden, die mit Erkrankten nicht zusammengekommen waren.

8) Daraus geht hervor, daß der *Meningococcus* nur direkt von Mensch zu Mensch übertragbar ist und

9) Daß die Nase und der Mund die Eintrittspforte der Krankheitserreger sind.

10) Auf welchem Wege der *Meningococcus* von den oberen Luftwegen aus in den Körper gelangt, läßt sich nicht sicher sagen, nach dem fast konstanten Nachweis im Blut ist eine hämatogene Entstehung und Weiterverbreitung sehr wahrscheinlich.

11) Der einfache mikroskopische Nachweis der Meningokokken in der Nase ist unmöglich, weil in derselben noch andere meningokokkenähnliche Mikroorganismen sich befinden, so besonders der *Micrococcus catarrhalis*.

12) Ein strikter Nachweis der Meningokokken kann nur durch Kultur und Agglutination erbracht werden.

**Benutzte Literatur.**

- 1) Dieudonné, Beiträge zur Aetiologie der Genickstarre. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XLI. 1906.)
- 2) Dieudonné, Wöschler, Würdinger, Die Genickstarreepidemie beim 1. bayr. Trainbataillon. (Münch. med. Wochenschr. 1906.)
- 3) Ghon, Pfeiffer und Sederl, Der *Micrococcus catarrhalis* (R. Pfeiffer) als Krankheitserreger. (Zeitschr. f. klin. Medizin. Bd. XLIV. 1901.)
- 4) Weichselbaum und Ghon, Der *Micrococcus meningitidis cerebrospin.* als Erreger von Endocarditis sowie sein Vorkommen in der Nasenhöhle Gesunder und Kranker. (Wien. klin. Wochenschr. 1905. No. 24.)
- 5) Albrecht und Ghon, Ueber die Aetiologie und pathologische Anatomie der Meningitis cerebrospinalis epidemica. (Wien. klin. Wochenschr. 1901. No. 41.)
- 6) Westenhöffer, Ueber perihypophyseale Eiterung und einige andere bemerkenswerte Befunde bei Genickstarre. (Deutsche med. Wochenschr. 1905. p. 179.)
- 7) Ostermann, Die Meningokokkenpharyngitis als Grundlage der epidemischen Genickstarre. (Deutsche med. Wochenschr. 1906. p. 414.)
- 8) Jaeger, Spangenberg, Rautenberg, Reinhard, Die Genickstarreepidemie beim Pionierbataillon No. 14. (Veröffentlichungen aus dem Gebiete des Militär-sanitätswesens. 1905. Heft 31.)
- 9) Flatten, Die übertragbare Genickstarre im Regierungsbezirk Oppeln im Jahre 1905 und ihre Bekämpfung. (Klinisches Jahrbuch. 1906.)
- 10) Flüge, Die im Hygienischen Institut der K. Universität Breslau während der Genickstarreepidemie im Jahre 1905 ausgeführten Untersuchungen. (Klin. Jahrbuch. 1905. p. 353.)
- 11) v. Lingelsheim, Die bakteriologischen Arbeiten der K. hygienischen Station zu Beuthen (O.-Schl.) während der Genickstarreepidemie in Oberschlesien im Winter 1904/05. (Klin. Jahrbuch. 1906. p. 373.)
- 12) Kollé und Wassermann, Untersuchungen über Meningokokken. (Klin. Jahrbuch. 1906. p. 507.)
- 13) Schottmüller, Ueber Meningitis cerebrospin. epidem. (Weichselbaumsche Meningitis.) (Münch. med. Wochenschr. 1905. p. 1617.)
- 14) Jaroslaw Horčička und Poledne, 2 Fälle von Mening. cerebrospin. epidem. nebst einer Reihe von Nasensekretuntersuchungen gesunder Personen bezüglich des Vorkommens von Mikrokokken vom Typus des Meningococcus. (Wien. klin. Wochenschr. 1905. p. 1027.)
- 15) Jakobitz, Ueber epidemische Genickstarre. (Münch. med. Wochenschr. 1905. p. 217.)
- 16) Leyden, Einiges über die drohende Epidemie der Genickstarre. (Deutsche med. Wochenschr. 1905. p. 817.)
- 17) Kraus, Deutsche med. Wochenschr. 1905. Vereinsbeilage. No. 22. p. 889.)
- 18) Westenhöffer, Deutsche med. Wochenschr. 1905. Vereinsbeilage No. 23. p. 930.)
- 19) Drigalski, Beobachtungen bei Genickstarre. (Deutsche med. Wochenschr. 1905. p. 982.)
- 20) v. Lingelsheim, Bericht über die in der hygienischen Untersuchungsstation zu Beuthen (Ob.-Schles.) vorgenommenen bakteriologischen Untersuchungen bei epidemischer Genickstarre. (Deutsche med. Wochenschr. 1905. p. 1017.)
- 21) Radmann, Weitere Bemerkungen über die epidemische Genickstarre. (Deutsche med. Wochenschr. 1905. p. 1020.)
- 22) Westenhöffer, Pathologische Anatomie und Infektionsweg bei der Genickstarre. (Berl. klin. Wochenschr. 1905. p. 737.)
- 23) Kiefer, Zur Differentialdiagnose des Erregers der epidemischen Cerebrospinalmeningitis und der Gonorrhöe. (Berl. klin. Wochenschr. 1896. p. 628.)
- 24) Meyer, Bericht über rhinolaryngologische Beobachtungen bei der Genickstarreepidemie. 1905. (Klin. Jahrbuch. 1906. p. 637.)
- 25) Neumann, Pseudodiphtherie bei Nasendiphtherie. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXI. 1902. p. 33.)
- 26) Ballin, Ueber das Vorkommen von Diphtheriebacillen beim gewöhnlichen Schnupfen der Säuglinge. (Jahrbuch für Kinderheilkunde. N. F. Bd. LVIII. p. 412.)
- 27) Weichselbaum, Zur Frage der Aetiologie und Pathogenese der epidemischen Genickstarre. (Wien. klin. Wochenschr. 1905. p. 992.)

## Ueber die Aetiologie der contagiösen Agalaktie.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Rom.]

Von Prof. **Angelo Celli** und Prof. **Dante De Blasi**.

Seit geraumer Zeit werden in unserem Institute Untersuchungen angestellt, um die Ursache der contagiösen Agalaktie bei Schafen und Ziegen festzustellen.

Diese Epizootie ist in der römischen Campagna und auch sonst in Italien verbreitet; nach Zangger (1854) und besser noch nach Hess und Guillebeau ebenfalls in der Schweiz unter den Ziegen, von denen augenblicklich ca. 30 Proz. befallen sind. Die Züchter fürchten die Krankheit wegen des starken ökonomischen Schadens, den sie dadurch erleiden, sehr. Bei den befallenen milcherzeugenden Tieren nimmt die Milchsekretion ab und hört zeitweise oder auch für immer auf.

Anfänglich sind die Euter angeschwollen, beim Berühren und beim Melken schmerzhaft, mit oder ohne Fieber (40—41°). Die Milch wird dann ganz charakteristisch: sie wird bläulich dick wie Sahne oder wässrig, im ersten Falle nimmt die Quantität sofort ab, im zweiten kann sie noch eine Zeitlang mehr oder minder reichlich sein, trennt sich aber genau in zwei Teile, Serum und Flocken, die letzteren bleiben am Gefäß und auch auf dem Grunde haften. Sie hat immer einen charakteristischen salzigen Geschmack.

Während der Epizootie und im folgenden Jahre kommen oft Fehl- und Todgeburten vor; wenn die Lämmer auch gesund geboren werden, gehen sie aus Mangel an Milch zu Grunde.

Die Krankheit kann sich auch im Auge als parenchymatöse Keratitis lokalisieren, die auf der Hornhaut Geschwüre bildet, die zur Panophthalmie, zur Entleerung des Auges und zu Blindheit führen. Auch kommen Lokalisationen im Carpus und anderen Gelenken in Gestalt von Entzündungen vor, so daß die Tiere lahmen und sich manchmal überhaupt nicht mehr fortbewegen können. Die Hammel und nicht säugenden Schafe haben meist Augen- und Gelenkentzündungen.

Die Agalaktie ist in dem Anfangsstadium sehr ansteckend. Es genügt, daß eine Herde mit einer infizierten, manchmal auch nur mit einem Tier in Berührung kommt oder an demselben Orte schläft, wo kranke geschlafen haben, um sich anzustecken. Einige Autoren halten die Krankheit nicht für ansteckend. Aber die 1896—1897 angestellten positiven Experimente Cellis und Santoris haben den Volksglauben an die Ansteckungsgefahr bestätigt, die mit wenig Erfahrung angezweifelt worden war.

Anfänglich und auch später wurde die Ursache der Krankheit in der Bakteriologie gesucht, aber immer ohne Erfolg. Deshalb haben wir uns gefragt, ob das Virus der Agalaktie nicht filtrierbar und ultramikroskopisch sei. Schon bei den ersten diesbezüglichen Experimenten im Frühjahr 1904 konnten wir die hauptsächlichsten Symptome der Krankheit reproduzieren, indem wir einem Schafe das bakteriologisch sterile Filtrat der charakteristischen Milch injizierten, und auf dieselbe Weise wurde die Agalaktie einem zweiten Schafe übertragen.

Weitere Experimente bestätigten die ersten und so konnten wir auf dem Pathologenkongreß in Rom 1905 auch das andere charakte-

ristische Symptom, die experimentelle parenchymatöse Keratitis, demonstrieren.

1906 gelang es uns, außer dem Rest des Krankheitsbildes auch die Gelenkentzündung hervorzurufen.

Vom pathologisch-anatomischen Standpunkte aus besteht die Krankheit in einem phlogistischen Prozeß mit Proliferation des Bindegewebes:

a) in dem Euter mit reichlicher interlobulärer Neubildung des Bindegewebes, endokanalikulären Polypen, und mehr oder minder ausgebreiteter Atrophie des Drüsenparenchyms;

b) in der Hornhaut mit einer interstitiellen parenchymatösen Keratitis und Neubildung von Blutgefäßen, die entweder heilt oder in Leukom oder in Hornhautgeschwüren und Panophthalmie endet;

c) in den Gelenken mit Arthrosynovitis, von einer kleinzelligen Infiltration des periartikulären Bindegewebes und der Synovialkapsel ausgehend, die zu nekrotischen Herden in dieser und in dem Knorpel der Epiphysis und zu polypöser Neubildung führt, wenn die Krankheit bereits sehr fortgeschritten ist.

Experimentell kann die Agalaktie durch Einspritzung des durch Berkefeld- und Silberschmidt-Kerzen filtrierten Virus (resp. Milch) in die Brustwarze, in den Milchkanal und manchmal auch in den Euter hervorgerufen werden; die Augenentzündung durch Einspritzungen in das Auge selbst oder unter die Haut; die Gelenkentzündung und Agalaktie durch endoartikuläre Einspritzung; durch subkutane Augen- und Gelenkeinspritzungen kann das vollkommene Krankheitsbild wiedergegeben werden.

Auch beim Kaninchen kann man durch Einspritzungen des filtrierten Virus in die Vorderkammer die parenchymatöse Keratitis reproduzieren.

Der pathologisch-anatomische Befund der experimentellen Agalaktie und der anderen Lokalisierungen ist mit dem der spontanen Infektion identisch.

Weder mit aus der Milch, aus den Augen oder aus den kranken Gelenken isolierten Bakterien noch mit anderem löslichen Materiale konnte Aehnliches erreicht werden.

Um die Agalaktie im engen Sinne des Wortes künstlich hervorzurufen, ist es das beste Mittel, die Injektionen in die Brustwarze, in den Milchkanal, subkutan oder in die Gelenke zu machen.

In wenigen Fällen genügt es, das Virus auf die Brustwarze zu streichen. Die Agalaktie muß daher direkt oder indirekt ansteckend sein oder wird vielleicht auch durch Injizierung übertragen; bis jetzt ist es uns nicht gelungen, festzustellen, ob die Arthropoden daran beteiligt sind. Das Virus kann auch mit dem Ultramikroskop morphologisch nicht von den Kolloidalteilchen der Milch unterschieden werden.

Das aus Ziegenmilch gewonnene Virus scheint sich experimentell nicht von dem der Schafsmilch zu unterscheiden.

Das Agalaktievirus ist ziemlich labil, in ca. 3 Monaten schwächt es sich unter guten Lebensbedingungen (15° C, Dunkelheit) ab. Auch diese Eigenschaft bestätigt indirekt, daß die Uebertragung auf die oben angegebene Weise stattfinden muß.

Durch die Passagen von Tier auf Tier, von Auge zu Auge schwächt sich das Virus eher ab, auf keinen Fall wird es stärker. Nach erlittener Krankheit erlangen die Tiere auch auf natürlichem Wege eine darauf folgende Immunität.

Wir hoffen auch, experimentell eine künstliche Immunität erlangen zu können<sup>1)</sup>.

Die Originalarbeit ist mit Tafeln und Figuren in den *Annali d'igiene sperimentale*. 1906. Heft 2 erschienen.

*Nachdruck verboten.*

## Les maladies bryocytiques (maladies à protozoaires).

4<sup>e</sup> Mémoire.

### La Syphilis.

Par le Dr. F. J. Bosc, Professeur à l'Université de Montpellier.

Avec 17 figures.

(Fortsetzung.)

#### C. Période éruptive.

Elle débute 45 jours après le début du chancre et dure de 40 à 60 jours. Elle est caractérisée par une éruption généralisée à la peau et à tous les tissus, et dont les éléments disparaissent par résolution spontanée. L'exanthème évolue en plusieurs poussées éruptives, chaque poussée se généralisant, en 4 à 5 jours, du tronc vers les extrémités. Comme les éléments de chaque poussée mettent longtemps à évoluer, chaque poussée nouvelle empiète sur la précédente de sorte que ces poussées subintrantes donnent l'impression d'une poussée unique qui durerait une cinquantaine de jours. Mais un examen attentif permet de constater des macules ou des papules d'une poussée récente à côté de papules adultes ou d'éléments en résolution de poussées antérieures. Ces poussées successives rapprochées ont été notées également par Metschnikoff et Roux dans la syphilis expérimentale: chez un chimpanzé, des poussées éruptives subintrantes se succédèrent pendant deux mois. On peut donc définir avec Mauriac l'éruption généralisée „une série de petites poussées subordonnées à la poussée générale et qui la rajeunissent et la prolongent“. Ce caractère de l'éruption n'est pas spécial à la syphilis; je l'ai noté aussi dans la clavelée où des poussées subintrantes mélangent des éléments éruptifs à des stades différents.

Quelle est la raison de ces poussées successives? J'ai cherché à fixer la durée des intervalles qui séparent chacune de ces poussées en étudiant un certain nombre d'observations où ils étaient consignés: j'ai constaté qu'il se produisait en général 3 à 4 poussées subintrantes, à des intervalles d'environ 7, 15 et 30 jours. Or nous avons vu que la lymphite apparaît 7 jours et l'adénopathie régionale 10 à 12 jours après le chancre et que l'adénopathie généralisée ne se manifeste que 30 jours après ce chancre. Comme chacun de ces foyers échelonnés présente des stades évolutifs comparables, l'on comprendra que le passage du virus dans le sang, au moment de la résolution spontanée de chacun d'eux, aboutisse, après une incubation égale, à des poussées éruptives séparées par ces mêmes intervalles de 7, 15 et 30 jours (voir le tableau).

1) Beim Korrigieren des Druckbogens können wir hinzufügen, daß es uns tatsächlich gelungen ist, eine Immunität künstlich herzustellen.



Les éruptions papuleuses au lieu de se distribuer du tronc vers les extrémités, débutent souvent par la face, le pourtour des orifices, fourreau, anus, vulve . . etc., étant précocement atteint, comme dans la clavelée. De même que dans la variole et la clavelée le début facial peut se faire par la muqueuse buccale sous forme d'un exanthème vermillon qui peut être également visible sur la pituitaire, le vagin (v. Düring); l'exanthème, d'après v. Düring (6) pourrait être aussi précédé d'une rougeur érythémateuse de la peau (rash).

Les éléments de l'éruption généralisée présentent la même évolution que le chancre, avec les stades de macule, papule, pustule dont le ramollissement et la résolution spontanée sont suivis ou non de cicatrice apparente. Par son aspect, sa couleur, son évolution, l'exanthème syphilitique est identique à l'exanthème claveleux: ce dernier peut présenter en effet un aspect purement maculeux violacé, ou bien boutonneux, ou aplati et de teinte jambon fumé, ou encore nodulaire, tuberculoïde, avec parfois de véritables formes géantes. La papule claveleuse, comme la papule syphilitique, se ramollit, laisse suinter du liquide à travers l'épiderme ramolli en desquamation et se résorbe avec ou sans ulcération. Dans la syphilis, comme dans la clavelée, la résorption spontanée laisse, s'il y a eu ulcération, une cicatrice blanche, déprimée, à pourtour pigmenté et s'il y a eu résorption simple, une cicatrice en forme de vergeture. La papule syphilitique peut présenter un stade de vésico-papule avec ombilication, suivi d'une pustule parfois purulente (éruption vésiculeuse).

L'éruption est généralisée: elle atteint la peau, les muqueuses (plaques muqueuses) et tous les tissus. Les plaques muqueuses, comme on le voit bien dans la clavelée, ne sont que des pustules rapidement macérées et infectées secondairement. L'éruption au niveau du périoste, des os, de l'œil, du foie, des reins et surtout du cerveau se manifeste par des nodosités appréciables au toucher ou par des symptômes tels que l'ictère, l'anasarque, du délire, des convulsions: ces lésions éruptives des parenchymes qui sont en rapport avec ces symptômes sont très mal connues chez l'adulte, mais l'étude de la syphilis héréditaire montre l'existence d'une éruption généralisée aux parenchymes de forme nodulaire, ou diffuse (cerveau) comme dans clavelée.

Les phénomènes généraux suivent une marche variable. En général, après une exacerbation prééruptive de 24 heures, les phénomènes de la phase d'invasion s'atténuent ou disparaissent avec l'apparition de l'exanthème: la fièvre présente une défervescence brusque et définitive ou s'abaisse pour disparaître avec la roséole épanouie. Dans les formes graves, au contraire, les phénomènes d'invasion persistent ou s'aggravent: la fièvre à type intermittent quotidien ou tierce persiste 8, 15 jours, parfois 3 mois (Fournier), avec des intervalles d'apyrexie en rapport avec les poussées successives. Cette fièvre peut revêtir le type rémittent avec exacerbation comparable à la fièvre hectique, avec sueurs profuses et amaigrissement cachectique, ou encore le type de fièvre continue susceptible de réaliser le tableau d'une fièvre typhoïde, avec des poussées sudorales et des algies paroxystiques qui aideront le diagnostic. Tous les phénomènes généraux ont une allure paroxystique qui rappelle singulièrement la malaria et qui doit correspondre, comme pour cette dernière, à des pullulations intermittentes du virus dans le sang. De même que le virus malarien, le virus syphilitique peut encore amener, avec chaque poussée, une aggravation nouvelle aboutissant à la cachexie aiguë et à la mort.

### Cycle consécutif ou chronique.

La possibilité de la réinoculation montre que la syphilis peut guérir après l'éruption généralisée, c'est à dire demeurer limitée à l'éruption post-chancreuse. Le résultat négatif de la réinoculation pourrait d'ailleurs être en rapport avec l'existence d'une immunité acquise et, pas plus que pour la variole, il ne saurait prouver la persistance de la maladie. Mais l'observation clinique nous démontre que la variole est bien définitivement guérie après son éruption, tandis que pour la syphilis, elle nous fait voir, par l'apparition de nouveaux accidents, que le virus persiste, le plus souvent, dans l'organisme. Cette infection persistante constitue ce que nous appelons le cycle consécutif ou chronique, car si elle se manifeste surtout au cours des premières années, elle peut ne se dévoiler qu'après 10 et 20 ans de bonne santé apparente, de sorte que les périodes de latence peuvent être très longues.

Les accidents de ce cycle consécutif peuvent être exactement identiques à ceux de l'éruption post-chancreuse et comme ceux-ci se produisent surtout pendant les premières années de la syphilis on leur a donné le nom d'accidents secondaires; ils peuvent aussi revêtir un aspect morphologique spécial auquel on a donné le nom de gommès et comme ces derniers apparaissent plus volontiers, et isolément, dans les périodes tardives de la maladie on les a nommés accidents tertiaires. Cette classification est absolument arbitraire. Les accidents primaires, secondaires et tertiaires sont identiques, comme nous le verrons, par leur structure et leur évolution générale et le moment de leur apparition ne peut servir à distinguer les secondaires des tertiaires car des éruptions du type dit secondaire peuvent survenir 10, 15 et 20 ans après le chancre (Feulard, Fournier) et les éruptions dites tertiaire sont très fréquentes dans les 5 premières années de la syphilis et peuvent même constituer la première poussée éruptive. Les accidents secondaires et tertiaires doivent donc être considérés comme des éléments éruptifs de même valeur mais ayant revêtu une modalité différente suivant le mode d'action du virus.

On donne le nom de roséoles de retour à des éruptions identiques à l'éruption post-chancreuse qui se produisent en général dans les trois années qui suivent le chancre: la poussée initiale de récédive apparaît en général du 2<sup>e</sup> au 8<sup>e</sup> mois, parfois la 3<sup>e</sup> année, rarement au cours de la quatrième; mais, comme je viens de le dire, on peut voir survenir une éruption semblable à la première, 10, 15 et 20 ans après le chancre. La roséole de retour peut être unique, mais on peut en observer 2, 3, 4 et jusqu'à 12 séparées par des intervalles de 4 à 12 mois (Fournier). Ces éruptions indolentes, aphlegmasiques, totalement résolutive, survenues après l'éruption post-chancreuse, sont plus discrètes, plus régionales et plus lentement résolutive que l'éruption post-chancreuse, en raison de l'immunité partielle acquise. Chaque poussée peut s'accompagner de phénomènes généraux paroxystiques: accès de fièvre intermittente, algies, amaigrissement, anémie qui disparaissent entre les poussées ou qui, dans les syphilis malignes, s'accroissent jusqu'à la cachexie et à la mort.

Gommès. Les éruptions du type post-chancereux ne se reproduisent plus aussi souvent à partir de la 5<sup>e</sup> année après le chancre et l'on observe alors, plus volontiers, des formations nodulaires auxquelles leur aspect spécial a fait donner le nom de gommès. Ces gommès ne sont pas des manifestations syphilitiques de nature spéciale; elles ne sont que des modalités du syphilome: 1) leur aspect morphologique ne permet pas en effet d'établir une différence essentielle entre les divers accidents syphilitiques; la gomme est, il est vrai, ordinairement volumineuse, blanchâtre, mais la différence est-elle plus considérable entre elle et une syphilide érythémateuse qu'entre cette dernière et une syphilide tuberculiforme de l'éruption aiguë? Il faut d'ailleurs juger d'une lésion non par un de ses stades mais d'après son évolution et surtout d'après son début et son stade adulte: l'aspect érythémateux ou rupioïde peut dépendre tout aussi bien d'un processus papuleux que d'un processus tuberculiforme et l'expression clinique de la gomme à son début peut être celle de la macule ou de la papule. 2) Au point de vue du siège, il est certain que des accidents dits secondaires peuvent évoluer dans le tissu cellulaire sous-cutané ou dans les parenchymes et il est absolument irrationnel d'étiqueter une lésion comme tertiaire parce qu'elle se présente sous une forme nodulaire profonde. 3) L'ulcération n'est pas davantage un caractère différentiel de la gomme: elle existe dans la gomme au même titre que dans le chancre et les grosses papules dites secondaires et elle n'est que l'expression du stade de résolution spontanée commun à toutes les néoformations syphilitiques. „Il est indifférent“, dit v. Düring, „d'établir si les ulcération sont pour origine une pustule, une bulle, une tubercule; le plus souvent d'ailleurs cette distinction n'est pas possible.“ 4) Si l'on suit de près l'évolution de la lésion gommeuse on voit qu'elle est celle de tout syphilome: après un stade d'accroissement sous forme de néoplasie nodulaire dure, cette dernière se ramollit et présente une résolution spontanée avec élimination au dehors ou résorption lente, aboutissant à une cicatrice ou à un nodule caséiforme ou scléreux. La lenteur ordinaire de cette évolution n'est pas spéciale à la gomme, car le chancre ligneux a une résolution très lente et nous avons vu que les éléments des roséoles de retour ont une résolution prolongée. Cette lenteur n'est d'ailleurs pas en

rapport avec l'évolution même de la gomme en tant que syphilome virulent, mais surtout avec la persistance des produits de dégénération non virulentes qui en résultent et qui seront d'autant plus difficiles à résorber que la structure fibroblastique du début sera plus prononcée. 5) D'ailleurs les accidents dits tertiaires ne correspondent pas uniquement à des formations isolées, mais ils peuvent apparaître sous forme d'éruption généralisée en surface et en profondeur, et non seulement à une période tardive mais dès le début de la syphilis; de même on peut voir survenir chez un malade une éruption composée à la fois d'éléments du type tertiaire et du type secondaire, de sorte que le caractère tiré de l'apparition tardive et isolée de la gomme perd toute valeur. On a encore la démonstration certaine que la gomme est un élément éruptif, au même titre que la papule, dans ces cas où une poussée d'accidents tertiaires constitue toute l'éruption aiguë post-chancreuse. Mauriac rapporte une observation dans laquelle „presque aussitôt après le chancre survint une première poussée formée de véritables néoplasies souscutanées tertiaires qui se ramollissaient et formaient de profondes cavernes ulcéreuses; il ne s'agissait pas de nodosités résolutives mais de gommes véritables“. Dans la syphilis héréditaire l'éruption généralisée revêt la forme gommeuse; d'autre part la statistique nous montre que le maximum de l'éruption gommeuse se fait au cours des premières années de la syphilis, pour décroître après la 4<sup>e</sup>, absolument comme pour les éruptions roséoliques. Enfin la gomme n'est qu'une simple modalité du syphilome ordinaire car nous verrons que sa structure au début est celle du chancre ou de la papule et l'expérimentation montre qu'à un moment donné de son évolution elle est virulente (Finger et Landsteiner).

Les gommes sont donc des éléments éruptifs syphilitiques au même titre que les papules. L'aspect variable des éléments éruptifs est en rapport, comme nous le verrons, avec le mode d'action du virus sur une néoplasie syphilitique toujours identique, suivant que le virus agit d'une façon progressive ou par masses compactes de façon à entraîner une dégénérescence brutale (gommes).

En somme, donc, la distinction des accidents syphilitiques éruptifs en secondaires et tertiaires est illégitime et la symptomatologie du cycle chronique reproduit celle du cycle aigu. La syphilis apparaît dès lors comme une maladie éruptive qui n'est pas limitée à une première poussée mais dont le virus persistant donne naissance à des poussées multiples de type variable et séparées par des intervalles extrêmement inégaux. Les manifestations syphilitiques éruptives, superficielles ou profondes, roséoliques, papuleuses, tuberculiformes, gommeuses sont toutes de syphilomes de même structure, au début, et dont les différences d'aspect dépendent uniquement du mode d'action du virus à un moment de leur évolution.

Parasyphilis. En dehors du chancre et des éruptions secondaires et tertiaires il existe des manifestations autres et qui quoique non syphilitiques seraient cependant d'origine syphilitique (Fournier). Ces manifestations, pour Lassar, seraient au contraire de nature syphilitique mais dues à un virus atténué et il y aurait lieu de créer, pour elles, une période quaternaire. La paralysie générale, le tabes, les orchites interstitielles, atrophiques, la glossite scléreuse atrophique comptent parmi les manifestations les plus importantes de la parasyphilis: elles ont comme caractères d'être tardives, d'avoir un début insidieux, une évolution très lente et d'aboutir à des lésions conjonctives terminées pas sclérose réfractaires au traitement spécifique.

Nous verrons que le virus syphilitique détermine toujours des réactions de caractères et d'évolution identiques qu'il s'agisse du chancre, des éruptions nodulaires, de la lymphite ou de l'adénopathie. Il s'agit toujours d'une néoformation conjonctivo-vasculaire et épithéliale qui, suivant le mode d'action du virus, progresse avec un type embryonnaire ou fibroblastique pour aboutir à une sclérose dont l'intensité et la précocité sont d'autant plus grandes qu'un plus grand nombre d'éléments fibroblastiques ont pu

résister à la résolution pour aboutir à la fibre conjonctive. Or ce processus n'est pas toujours nodulaire; il peut être diffus et envahir d'emblée, par la voie vasculaire, une grande étendue. Si ce virus est atténué, la prolifération sera surtout du type fibroblastique et lentement dégénérative et aboutira à des lésions scléreuses avec destruction progressive des formations épithéliales. Si, en outre, ces lésions discrètes mais progressives comme intensité sont d'emblée diffuses sur une grande étendue, elles pourront être d'abord peu perceptibles pour le clinicien et n'apparaître nettement que lorsque la dégénérescence et la sclérose auront déterminé des lésions indélébiles et dèsormais indifférentes au traitement. C'est ainsi qu'au niveau du cerveau nous constaterons des lésions diffuses de l'écorce et des méninges formées d'abord par une prolifération embryonnaire mais rapidement fibroblastique et dont la résolution spontanée aboutit à une sclérose définitive avec dégénération de la trame cérébrale et des cellules nerveuses: l'on comprend facilement dès lors le début insidieux, la marche lente, l'inefficacité du traitement antisypilitique, les troubles fonctionnels irrémédiables, même à une période peu avancée, de la paralysie générale. Il y a donc une relation étroite entre les lésions et les traits symptomatiques essentiels des affections dites parasypilitiques et qui en réalité sypilitiques à leur début deviennent bientôt des séquelles de la syphilis. Ces lésions diffuses d'emblée, à la fois sclérosantes et dégénératives, rapidement indélébiles et irrémédiables correspondent bien à ces syphilis très légères ou atténuées par le traitement que l'on trouve dans l'étiologie de la paralysie générale et du tabes.

En résumé, la syphilis est une maladie éruptive, infectieuse et contagieuse, dont le virus, après avoir pénétré (en général) par la voie tégumentaire où il produit un accident local et des lésions régionales (lymphite et adénopathie), passe dans le sang pour donner naissance à une éruption généralisée et souvent à des éruptions successives de type morphologique variable: érythémateux, papuleux, tuberculiforme, gommeux, tantôt succulent, tantôt ligneux .... Mais tous ces types d'éléments éruptifs qui sont susceptibles d'apparaître à toutes les périodes de la maladie, ont une évolution générale semblable (accroissement, résolution spontanée, cicatrisation) et présentent, comme nous le verrons, une structure identique; ils sont donc tous de valeur spécifique égale et leur différence d'aspect ne dépend que du mode d'action du virus à un moment de leur évolution. En dehors des accidents nodulaires, la syphilis peut donner naissance à des affections insidieuses et rebelles au traitement antisypilitique et qui sont bien dues à des lésions de nature sypilitiques mais diffuses d'emblée, discrètes et rapidement sclérosantes et dégénératives; les caractères de ces lésions permettent de comprendre que lorsque elles deviennent cliniquement appréciables elles sont déjà arrivées au stade cicatriciel et constituent une séquelle indélébile de la syphilis.

(Fortsetzung folgt.)

Nachdruck verboten.

## Zur Kritik der *Spirochaete pallida* Schaud.

[Aus dem zoologischen Institute der königl. Universität Berlin  
(Direktor: Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. Fr. E. Schulze).]

Von Dr. Theodor Salling, Berlin.

Mit 2 Tafeln und 2 Textfiguren.

(Fortsetzung.)

Aus all dem Gesagten ergibt sich, daß selbst noch Befunde von spirochätenähnlichen Gebilden in Ausstrichen frischer Organe immerhin mit einer gewissen Kritik beurteilt werden müssen, da unter Umständen kleine, abgescheuerte Gewebsfäserchen oder zusammengeschnurte Nervenfibrillen das Bild einer Spirochäte vortäuschen können.

Nach diesen Einwänden wird man mich vielleicht verweisen auf die Beobachtungen, die Schaudinn (51), Kreibich (29) u. a. an der lebenden Spirochäte gemacht haben.

Daß aus Hautpapeln oder mazerierten inneren Organen stammende Spirochäten tatsächlich lebend gesehen wurden, will ich nicht bestreiten; doch kann man in diesen Fällen nur von solchen sprechen, die in jedem Fäulnisherde anzutreffen sind. War es schon im fixierten und tingierten Präparat unmöglich, ein Kriterium für die *Pallida* zu erbringen, so ist ein solches Unternehmen bezüglich des lebenden Objektes noch viel gewagter und unzuverlässiger. Doch möchte ich den Hinweis nicht unterlassen, daß die Beobachtung des nativen Präparates ebenso leicht zu Täuschungen Veranlassung geben kann. So konstatiert Omelczenko (42) in seiner oben zitierten Arbeit, daß Bindegewebsfasern, die herausgezupft in Flüssigkeit übertragen werden, sich dann wie freigewordene Federn verhalten und Bewegungen erkennen lassen. Aber viel wertvoller ist für mich das Urteil zweier Spirochätenanhänger, die trotz des selbst erhobenen, schwerwiegenden Einwandes gleichwohl an der Spirochäte festhalten. So äußern sich Sobernheim und Tomaszewski (55) hierüber wörtlich: „Eine Beweglichkeit der *Spirochaete pallida* im Sinne von Eigenbewegung haben wir nicht mit Sicherheit zu konstatieren vermocht, wohl aber haben wir eine eigentümliche, zitternde oder pendelnde Bewegung gesehen, die wir indes nur als Molekularbewegung ansprechen möchten. Ebenso ist es uns zweifelhaft, ob andere Bewegungen ohne Ortsveränderung, die wir oft beobachtet haben, nicht einfach in dem gleichen Sinne zu deuten sind, zumal eine bohrende Rotation um die Längsachse und eine weitere eigentümliche Bewegungsart, die man am besten mit dem Biegen und Zurückschnellen eines elastischen Rohres vergleichen kann.“

Also der Nachweis der *Pallida* ist auch im lebenden Präparat nicht einwandfrei erbracht worden. Trotz der zahlreichen Bestätigungen der mit Anilinfarbstoffen nachgewiesenen *Pallida* hatten sich doch so viel Lücken und Widersprüche herausgestellt, daß die Beweisführung wohl allgemein als nicht ausreichend empfunden wurde. Man war daher eifrigst bestrebt, den Nachweis der *Pallida* durch Einführung besserer Methoden sicherer zu gestalten.

Dies schien erreicht zu sein, als nach der Mitteilung von Bertarelli und Volpino (2), daß sich durch Silberimprägnierung die *Pallida*

im Gewebe darstellen lasse, eine geradezu begeisterte Stellungnahme für die Spirochäte erfolgte. Levaditi (32) war es hauptsächlich, der unter den Auspizien Metschnikoffs diese Verhältnisse einer Nachprüfung unterzog und dann durch Veröffentlichung seiner mittels Silberimprägnierung erhaltenen Resultate Aufsehen erregte. Denn während sich früher die *Pallida* im Gewebe gar nicht oder nur in sehr geringer Anzahl auffinden ließ, so erschien sie jetzt daselbst in „ungeheuren Mengen“. Ueberall wurde dies Verfahren angewendet, und von vielen Seiten liefen Bestätigungen ein, daß die *Pallida* fast überall und in solcher Häufung auftrete, daß man — wie Blaschko (6) sich ausdrückt — „überwältigt“ war „von ihrer ungeheuren Massenhaftigkeit“. Auch Versé sieht die „*Pallidae*“ in „verblüffenden Mengen“, Bertarelli findet sogar „Myriaden“. Der mystische Schleier, der die *Pallida* umwob, war gelüftet, ihre ätiologische Bedeutung für die Syphilis erschien nunmehr gesichert, und sie wurde nun in Artikeln, Reden und Demonstrationen vor wissenschaftlichen Vereinigungen als Lueserreger proklamiert, ohne daß man bedachte, daß diese „Spirochäten“-Befunde auch eine ganz andere Deutung der Verhältnisse zulassen könnten.

Ich habe in den letzten Monaten eine genaue Nachuntersuchung dieser Silberspirochäten vorgenommen und bin dabei zu gänzlich anderen Resultaten gekommen, die ich im folgenden eingehend besprechen will. Meines Erachtens hat in dieser ganzen Spirochätenfrage zunächst darin eine gewaltige Irreleitung resp. Selbsttäuschung stattgefunden, daß man die Behauptung, die Levaditische Methode bringe den Lueserreger zur Darstellung, als Axiom hinnahm und sich gar nicht die Frage vorlegte, ob diese Methode denn auch wirklich den Parasiten und nichts anderes sichtbar mache. Greifen wir doch auf Levaditi (32) zurück und vergegenwärtigen wir uns, was er mit eigenen Worten von seiner Methode sagt: „C'est la méthode recommandée par Ramon y Cajal pour la coloration des fibrilles nerveuses, qui nous a servi avec succès à teindre les spirochètes dans les coupes histologiques, méthode que nous avons légèrement modifiée.“ Anstatt nun logischerweise etwa fortzufahren: „Mit ihrer Hilfe konnte ich den Verlauf der Neurofibrillen studieren etc.“, erklärt er ganz willkürlich: „Grâce à elle, nous avons pu étudier l'histologie pathologique de l'hérédosyphilis dans ses relations avec le *Spirochaete pallida*.“ Also der Autor benutzt eine Methode zur Darstellung von feinsten Nervenendigungen und konstatiert Spirochäten! Wo aber die Fibrillen bleiben, erwähnt er mit keiner Silbe. Doch hat ja Levaditi die Cajalsche Technik modifiziert! Worin besteht nun das „légèrement modifiée“?

Pollack (43) führt in seiner „Färbetechnik für das Nervensystem“ auch die Methoden Cajals auf. Wir erfahren dort, daß dieser verdienstvolle Neurologe drei Silberimprägnierungen für Nerven ausfindig gemacht hat, deren jede aber ein Spezifikum für einen besonderen Teil des Nervenapparates darstellt, und zwar muß man unterscheiden:

- 1) die Färbung der myelinhaltigen Achsencylinder
- 2) „ „ „ marklosen Neuriten und
- 3) „ „ „ Endverästelungen der Achsencylinder

Gerade diese letztere hat sich Levaditi herausgesucht, er verwendet aber eine schwächere Formalinlösung und ordnet zwischen Formolkonservierung und Silberlösung noch ein Ueberführen der Gewebe auf 24 Stunden in 96-proz. Alkohol an. Durch dieses Einschalten des starken Alkohols wird eine ganz unbeabsichtigte Wirkung erzielt! Denn ist

schon nach dem Urteil zahlreicher Neurologen infolge der Einwirkung der Silberlösung eine Schrumpfung nie ganz zu vermeiden, so wird diese durch die Schrumpfmethode Levaditis in höchstem Maße gefördert. Es gereicht mir zur Genugtuung, bei meinen Versuchen bestätigt zu sehen, daß die vorher mehr gestreckt verlaufenden Neurofibrillen infolge der Behandlung nach Levaditi derart schrumpfen, daß eine mehr oder minder deutliche Spiralforn zum Ausdruck kommt. Zur Bekräftigung dieser Aussage zitiere ich Kolmer (27), der sich ebenfalls dahin ausgesprochen hat, daß das Zustandekommen der Bilder von Spiralen sich aus Schrumpfungen erkläre, die unter der Einwirkung schwacher Silberlösungen im Längsdurchmesser stattgefunden haben. Uebrigens sind es nicht nur Neurofibrillen, die diese spiralförmige Schrumpfung erleiden, sondern der gleiche Vorgang läßt sich unter Umständen unschwer auch an anderen Fasern (Bindegewebsfasern, inter- und intracellulären Fasern) ja sogar an den roten Blutkörperchen erkennen.

Man könnte mir entgegenen: „Die Nervenendfasern und andere Gewebsfasern mögen ja auch spiralförmige Form besitzen, doch erscheinen die Spirochäten niemals als lange Faserzüge, sondern als kurze, zusammenhanglose Spiralen“, obwohl diese Behauptung nicht ganz richtig wäre, da mehrfach von Spirochätenanhängern (z. B. Krzysztalowicz und Siedlecki (30) auch außergewöhnlich lange Formen gezeichnet wurden; ja neuerdings meinen Bertarelli und Volpino (3), daß *Pallidae* mit sogar 80 Windungen (!) nicht allzu selten seien. Doch läßt sich das Zustandekommen ganz kurzer Spiralen sehr leicht erklären.

Wer in der modernen Nervenhistologie einigermaßen auf dem Laufenden ist, der weiß, in welcher weitgehendem Maße die Verästelung der Neurofibrillen erfolgt, wie sie, besonders reich in Haut und Drüsen gelegen, dort jede Zelle umspinnen, ja in diese selbst höchst zarte Endausläufer entsenden. Diese Verhältnisse sind ja gerade erst in neuester Zeit durch eine ganze Reihe von Arbeiten unserer hervorragenden Neurologen, wie Apáthy (1), Bethe (4), Bielschowsky (5), Botezat (7), Cajal (12), Dogiel (13), Ehrlich (16), Kölliker (24), Retzius (46), Smirnow (53) u. A. klargestellt worden. Wird nun irgend eine Gewebspartie, nachdem in ihr die feinen, nach jeder Richtung hin verlaufenden Fibrillen zu spiralförmiger Schrumpfung gebracht wurden, mikrotomiert, so sind auf recht dünnen Schnitten schon sehr kurze Spiralen zu bemerken. Bedenkt man ferner, daß inluetischen Geweben die Widerstandsfähigkeit der zarten Fibrillen infolge der pathologischen Gewebsveränderung auf ein Minimum herabgesetzt wurde, so kann man sich nicht wundern, wenn durch Schrumpfmethode und folgende Quellung in Aqua dest. die Endausläufer gewaltsam zersprengt werden und nun als zusammenhanglose, kurze Fäserchen überall im Gewebe angetroffen werden. Dies wird noch um so mehr der Fall sein, wenn man, wie es in neuester Zeit zu geschehen pflegt, hochgradig mazeriertes Material zur Untersuchung heranzieht. Uebrigens habe ich dieselbe Wahrnehmung gemacht an einem Kaninchen, das ich erst 4 Tage nach seinem Tode sezierete. Die feinen Nervenverästelungen waren hier z. B. in Leber und Pankreas viel kürzer und spiralförmiger zur Darstellung gekommen, als es sonst im gleichen, nicht mazerierten Gewebe der Fall war. Ich will es gar nicht leugnen, ja ich nehme es sogar direkt an, daß dieluetische Mazeration, ein Prozeß, den wir künstlich gar nicht nachahmen können, eventuell ganz besonders geeignet ist, die Kontinuität der Fibrillen zu zerstören.

Doch noch ein anderer, sehr wichtiger Punkt! Alle Neurologen

behaupten einmütig, daß zu einer vollständigen Tinktion der Nervenfasern ganz unerläßlich sei die Verwendung lebensfrischen Materials. Ja, von vielen Forschern wird sogar der vitalen Nervenfärbung der Vorzug gegeben, und nach der Sektion werden die Gewebstücke noch längere Zeit im Thermostaten in der Farblösung belassen, damit nur ja die Tinktion eine durchgängige werde. Dagegen ist die Launenhaftigkeit der Silbermethoden bei Nervenfärbungen allgemein anerkannte Tatsache. Ohne jede ersichtliche äußere Veranlassung wird eine Nervenfasernur bruchstückweise in einzelnen Parteen tingiert, so daß Bilder zu stande kommen, als ob die Faser vielfach durchgerissen sei. Ebenso launisch verhält sich, was allerseits offen zugegeben wird, die Silbermethode aber auch gegenüber den Spirochäten, indem diese nur regionenweis sichtbar werden. Schon allein diese eigenartige Uebereinstimmung zweier histologischen Elemente, die durchaus verschieden sein sollen, es aber in Wirklichkeit sowohl hinsichtlich ihrer Gestalt als auch ihres chemischen Verhaltens nicht sind, legt die Vermutung außerordentlich nahe, daß es sich doch tatsächlich um identische Gebilde handeln könnte.

Ich glaube also gezeigt zu haben, daß man keineswegs gezwungen ist, den kleinen Silberspiralen eine parasitäre Bedeutung beizumessen, da sie sich weit überzeugender als spiralig geschrumpfte, teils zerstückelte, teils stückweise gefärbte Fasern dartun lassen.

Wenn nun Levaditi u. A. die Rechtmäßigkeit dieser Einwände bestreiten sollten, so frage ich bei ihnen an, wie mit ihrer Spirochätenalias Neurofibrillenmethode die feinsten Nervenfasern zur Darstellung gekommen sind. Auf Levaditis (32) und Blaschkos (6) Abbildungen, die den großen Nachteil haben, daß sie nicht Photogramme sind — denn eine Zeichnung ist immer mehr oder weniger subjektiv — fehlen die schwarz tingierten Nervenendfibrillen vollständig, dafür sind aber in Menge die ebenfalls schwarzen und zarten „*Pallidae*“ mit überraschend regelmäßigen Windungen eingezeichnet. Das ist doch höchst sonderbar! Allerdings erkennt man auf einigen Figuren Levaditis braun gefärbte Stränge, aber die tragen doch zu sehr den Charakter von Bindegewebszügen. Es sind wahrscheinlich auch Nerven dabei, z. B. myelinhaltige Achsencylinder oder marklose Neuriten, die ja bei der dritten Cajal-Methode sich nicht vom übrigen Gewebe differenzieren sollen, aber jedenfalls sind keine tingierten Nervenendigungen darunter. Wo sind also die Fibrillen? Sollte Levaditi etwa glauben, daß in luetischem Gewebe keine Nervenendigungen vorhanden sind? Außer Levaditi haben sich noch viele andere Autoren derselben Methode bedient und sind merkwürdigerweise zum gleichen Resultat gelangt. Allerdings sind Kontrollversuche nicht in ausreichender Weise angestellt worden, das verdient besonders betont zu werden, und es scheint sich die Ansicht herausgebildet zu haben, daß das Vorhandensein der *Pallida* und ihre ätiologische Beziehung zur Syphilis damit endgültig erwiesen sei, weil sich schon so Viele dahin ausgesprochen haben. Also der allbekannte, alte Autoritätsglaube scheint auch hier mal wieder ausschlaggebend gewirkt zu haben. Einige Autoren haben dann die Levaditische Methode wiederum modifiziert, indem sie eine andere Prozentuierung der Lösungen oder einen anderen Reduktor vorschlugen, aber das Resultat blieb immer das gleiche, was ja dadurch leicht verständlich wird, weil bei diesen Methoden immer die Silberlösung das wirksame Agens darstellt. Schaudinn hat sich öffentlich nicht über die Silbertechnik ausgesprochen,



doch hat er an Reuter (48) ein Gutachten abgegeben und die Silberspirochäte als identisch mit seiner *Pallida* erklärt. Ebenso wurden die kürzlich von Bertarelli (Centralbl. f. Bakt. etc. Orig. Bd. XLI. 1906. No. 3) in der Cornea einesluetischen Kaninchens angetroffenen „*Pallidae*“ von Schaudinn sanktioniert, auch sandte er selbst angefertigte Levaditi-Präparate nach Königsberg zur Demonstration. Neuerdings hat sich auch Hoffmann (Deutsche med. Wochenschr. 1906. No. 22) in einer Spezialarbeit zur Silberspirochäte bekannt.

Soviel über die zur Sichtbarmachung der „*Pallida*“ angewendete Methodik. Man kann nicht leugnen, daß sie zur Beweisführung gerade so verfehlt ist, wie die Verwendung nicht frischen Materials. Solange aber eine Methode zu so verschiedenartigen Deutungen berechtigt, darf man keinesfalls derart weitgehende Schlüsse ziehen, wie es geschehen ist.

Wie schon aus den bisherigen Erörterungen hervorgeht, bin ich auf Grund eingehender Kontrollversuche zu dem Ergebnis gelangt, daß die vielbesprochenen Silberspirochäten gar keine Parasiten sind, sondern zum weitaus größten Teile fein zerstückelte, stückweise tingierte und spiralig geschrumpfte Nervenendfibrillen. In manchen Fällen hat man es aber sicher auch noch mit anderen Gewebfasern zu tun. Auf diese Dinge will ich jetzt näher eingehen und an der Hand von Photogrammen, die zur Klärung dieser Streitfrage unerlässlich sind, meine Behauptungen beweisen.

Bei Anfertigung der Photogramme lernte ich verstehen, weshalb die meisten Autoren bisher von einer photographischen Wiedergabe der Silberspirochäten Abstand genommen hatten. Die Einstellung auf der photographischen Platte ist besonders bei Anwendung von 2000facher Vergrößerung recht schwierig, da sich bei der geringsten Verschiebung der Mikrometerschraube ein total anderes Bild ergibt. Bei der mikroskopischen Beobachtung verhält sich dies ganz anders, indem sich das Auge schnell akkommodiert und bei Benutzung der Mikrometerschraube alle Spiralen mit Leichtigkeit zu durchlaufen vermag, während auf der Photographie nur eine einzige Bildebene scharf zum Ausdruck kommt. Es wäre deshalb ein Photographieren bei schwächeren Vergrößerungen zu empfehlen, wenn sich hierbei nicht ein anderer Umstand hindernd in den Weg stellen würde. Dringt man nämlich nach Hinunterschrauben des Abbe-Kondensors und Ablendung mit schwächeren Systemen in tieferliegende Schichten, so zeigt sich in auffälligster Weise, daß die „Spirochäten“ häufig nicht mehr isoliert liegen, sondern miteinander in Zusammenhang stehen und ein Geflecht bilden, genau so, wie es Nervenendfibrillen zu tun pflegen.

(Fortsetzung folgt.)

Nachdruck verboten.

## Untersuchungen über die Balanitis- und Mundspirochäten.

Von Prof. Erich Hoffmann und S. v. Prowazek.

Mit 1 Tafel.

(Schluß.)

Bei *Spirochaeta pallida* (*Trep. pallidum*) betrachten Krzysztalowicz und Siedlecki<sup>1)</sup> die von Schaudinn zuerst entdeckten geißelartigen Fortsätze gleichfalls als „une des phases de l'allongement du corps“. Ferner fand Zettnow bei den Recurrensspirochäten an jedem Ende einen kleinen Anhang, „der wie eine Geißel aussieht, sich aber doch von den Geißeln der Bakterien dadurch unterscheidet, daß er die einfache Methylenblaufärbung annimmt, was bekanntlich die Geißeln der Bakterien niemals tun“<sup>2)</sup>.

Das von H. Salomon<sup>3)</sup> genauer untersuchte „*Spirillum*“ des Säugtiermagens, das wohl eine Spirochäte ist, besitzt auch an „jedem Ende einen blassen, geraden, allmählich sich etwas verjüngenden Fortsatz, an der Basis etwa so breit wie der Spirillenleib, in der Länge etwa 2 bis 3 Windungen entsprechend. Nicht selten hatte man bei der Besichtigung den Eindruck, als ob dieser Fortsatz aus mehreren feinsten, parallel verlaufenden Einzelfäden (Geißelfäden) bestände“. Bei einer lädierten Spirochäte konnte auch eine Auflösung des Periplasts in Myophan fibrillen beobachtet werden, an die, wie bei dem Periplast der Trypanosomen, die Kontraktionsfähigkeit des Körpers gebunden zu sein scheint, weshalb auch die oben erwähnten geißelähnlichen Periplastfortsätze beweglich sind. In diesem Sinne wird in physiologischer Hinsicht der Unterschied zwischen Geißel und Periplastfortsatz verwischt, in morphologischer Hinsicht entspringen dagegen im Gegensatz zu den Periplastfortsätzen die Geißeln mit einem deutlichen Absatz scharf aus dem Zellkörper, in den sie bei den größeren Formen durch sogenannte Basalkörper eingepflanzt sind, enden meistens stumpf oder laufen in einen wohlabgesetzten Endfaden aus; neueren Untersuchungen zufolge werden sie bei der Teilung nicht der Länge nach gespalten, sondern entstehen von neuem längs der alten Geißel (vergl. *Monas*, *Polytoma*, *Chilomonas*, Trypanosomen etc.)

Das Studium dieser Spirochäten während des Lebens, ihr Aussehen, ihre ausgesprochene Flexibilität und ihre Fortbewegungsweise ist für die Auffassung der Spirochätenmorphologie sehr wichtig; die während des Lebens und in der Lugolschen Lösung beobachtete bandförmige Gestalt der Spirochäte, die auf der einen Seite von einem undulierenden Membransaum abgegrenzt wird, sowie die Art der Teilung, welche, wenn man selbst von den vielfach angefochtenen frühen Stadien, die mit einer

1) Krzysztalowicz et Siedlecki, M., Contribution à l'étude de la structure et du cycle évolutif de *Sp. pallida* Schaud. (Bull. d. l'Acad. des scienc. de Cracovie. 1905. Novembre.)

2) Koch, R., Ueber afrikanischen Recurrens. (Berl. klin. Wochenschr. 1906. No. 7.) Nach den Ausführungen von Dönitz gelegentlich der Demonstration von Geißelpräparaten der Recurrensspirochäte bei der ersten Tagung der freien Vereinigung für Mikrobiologie zu Berlin scheint Zettnow diese Ansicht aufgegeben zu haben und die erwähnten Endfortsätze als Bakteriengeißeln bzw. als Geißelbüschel aufzufassen.

3) Salomon, H., Ueber das *Spirillum* des Säugtiermagens etc. [Inaug.-Diss.] Jena 1906.

Verdoppelung des Periplastanhanges beginnen und ein V-förmiges Zwischenstadium, das von uns auch während des Lebens beobachtet wurde, durchlaufen, vollkommen absieht, in ihren in Fig. 4 abgebildeten Endstadien bei den Bakterien in dieser Weise nicht vorkommt, deutet auf eine Zugehörigkeit dieser Lebewesen zu den Protozoen.

Die Balanitisspirochäte unterscheidet sich von der größeren *Spirochaeta refringens* durch ihre geringere Breite, durch ihre engeren und regelmäßigeren Windungen, durch die häufiger vorhandenen, oft langen, spitz auslaufenden Periplastanhänge<sup>1)</sup>, sowie durch ihre Bewegungsform.

Die Speciesdiagnose der Balanitisspirochäte, *Spirochaeta balanitidis* nov. spec., lautet: Lange, ca.  $\frac{1}{2} - \frac{3}{4} \mu$  breite, bandförmige, meist mit einem, häufiger mit zwei oft gewellten Periplastfortsätzen versehene Spirochäte, die in der Mehrzahl der Fälle 6—10 Windungen besitzt. Sowohl während des Lebens als auch in der Lugolschen Lösung kann man an ihr mit homog. Immers. 2 mm u. Komp.-Okul. 8 eine undulierende Membran wahrnehmen. Die Bewegung ist wellenförmig, oft mit Rotationen um die Körperachse verbunden, meist auch seitlich schlängelnd; häufig wechseln Ruhepausen mit Momenten lebhafter Bewegung, wobei stärker lichtbrechende Knotenpunkte mehr oder weniger rasch über den Spirochätenleib dahinlaufen. Weitere Unterscheidungsmerkmale werden sich wohl aus einem vertiefteren Studium der Entwicklungsgeschichte, sowie aus der Kultur dieser Spirochäten ergeben: immerhin empfiehlt es sich, auch jetzt schon auf Grund der betonten Unterscheidungsmerkmale und der nicht unwahrscheinlichen Pathogenität der Balanitisspirochäte diese einstweilen von der *Spirochaeta refringens* zu trennen.

Hier mag angeführt werden, daß auch zwei Versuche, die Balanitis erosiva circinata auf Affen zu übertragen, gemacht wurden. Dazu wurde eine Seite der Vorhaut eines *Macacus hecki* und *Cercocebus fuliginosus* mit spirochätenreichem Detritus und Eiter von einem typischen Krankheitsfall nach oberflächlicher Skarifikation eingerieben. Nach 2 bis 3 Tagen entstanden bei dem *Cercocebus* deutliche figurierte Erosionen mit grauem Randsaum, die sich sehr langsam zurückbildeten, bei dem *Macacus* nur eine geringfügige Balanitis. In beiden Fällen, besonders dem ersteren, waren reichlich Spirochäten von Größe, Form und Bewegungsart der menschlichen Balanitisspirochäte vorhanden, deren Zahl etwa 3 Tage nach der Uebertragung am größten war, um dann allmählich abzunehmen. Bei gesunden Tieren scheinen Spirochäten im Präputialsack zu fehlen oder doch spärlich zu sein.

### Mundspirochäten.

Des Vergleiches wegen wurden auch andere Spirochäten, vor allem die Mundspirochäten des Menschen und der Affen (Mohrenaffe, gemeine Mangabe, *Cercocebus fuliginosus* Geoffr.) in den Kreis der Untersuchungen einbezogen.

Im Munde scheinen mehrere Arten von Spirochäten vorzukommen, deren genaue Abgrenzung erst die Kenntnis der Entwicklungsgeschichte ermöglichen wird. Vorläufig kann man drei im Munde des Menschen schmarotzende Formenkreise von Spirochäten annehmen, und zwar a) Formen, die ziemlich breit und 15—20  $\mu$  lang sind und wenige flache Windungen besitzen; b) Formen, die äußerst zart sind, sehr zahlreiche

1) Auch bei *Sp. refringens* sahen wir diese Endfäden mitunter.

(bis 20 und mehr), dichtgestellte steile Windungen haben und wegen ihrer Kleinheit und Zartheit in den gewöhnlichen, nach Giemsa's Angaben gefärbten Präparaten kaum auffindbar und erst mit Loeffler's Geißelbeize gut darstellbar sind; c) Formen, die bezüglich ihrer morphologischen Beschaffenheit ungefähr in der Mitte zwischen den beiden erwähnten Formenkreisen stehen und eine sehr charakteristische Bewegung besitzen; die Wellen sind ziemlich steil, jedoch sehr unregelmäßig, so daß auf eine oder zwei tiefe Wellen kleinere Wellenberge folgen, wodurch eine eigenartige unregelmäßige, knitterige Bewegungsform bedingt wird.

Die im Jahre 1862 von Steinberg als *Spirochaeta buccalis* beschriebene Spirochäte, die zum Teil mit *Spirochaeta denticola* Arndt und *Spirochaeta dentium* Miller identifiziert wird, kann wohl kaum mit hinreichender Sicherheit irgend einer der oben geschilderten Formen gleichgestellt werden<sup>1)</sup>. Aus praktischen Gründen empfiehlt es sich aber doch, vorläufig jene Formen mit dem Vorbehalt, daß beim weiteren Studium sich vielleicht manche als Glieder eines gemeinsamen Entwicklungskreises einer Spirochäte enthüllen könnten, zu benennen, und wir schlagen vor mit Lühe (Handb. d. Tropenkrankh. Bd. III, herausgeg. von Mense), die große Form als *Spirochaeta buccalis*, die kleinste als *Spirochaeta dentium*<sup>2)</sup> und die dazwischen gelegenen Formen vorläufig als Mittelformen zu bezeichnen.

In der Mundhöhle des Affen kommt neben zahlreichen Bakterien, Pilzhyphen und *Trichomonas buccalis* außer den erwähnten Spirochäten noch eine dicke Spirochäte mit 1—9 Windungen und einer deutlichen undulierenden Membran vor; bei dieser Form laufen bei der Bewegung die oben erwähnten Knotenpunkte rascher und gleichmäßiger als bei der *Spirochaeta balanitidis* dahin.

Die Mundspirochäten kann man viele Tage lebend in einem mit Vaseline oder Wachs sorgfältig umrandeten Deckglaspräparat halten, während sie im hängenden Tropfen offenbar unter O-Einfluß bald ihre Beweglichkeit einbüßen. Diese Beobachtung stimmt sehr gut mit den Resultaten der anaëroben Züchtungsversuche von Mühlens überein.

In vor längerer Zeit hergestellten Deckglaspräparaten werden die Ortsbewegungen der Mundspirochäten oft sistiert, und man kann das Spiel der undulierenden Membran an den leichten Bewegungswellen, die über den Zellkörper der Spirochäte dahinfließen, beobachten. Manchmal bewegen sich nur einzelne Teile der Spirochäte, und besonders die Mittelform schlägt zuweilen nur mit der Hälfte oder einem noch kürzeren Abschnitt ihres Zellkörpers hin und her. In den Deckglaspräparaten wurden am 2. Tage nach ihrer Herstellung und später auch aufgerollte Spirochäten wahrgenommen, die sich aber wieder strecken und beweglich werden können.

Bei der *Spirochaeta buccalis* (Fig. 13) sahen wir nur in Einzelfällen die bereits von W. Löwenthal<sup>3)</sup> beschriebenen geißelartigen Anhänge, die bei den Mittelformen noch seltener vorzukommen scheinen. Dagegen gelang es bei der ersteren Form, in mit wenig destilliertem Wasser versetztem, sehr dünn ausgestrichenem Material, das nach

1) In der früheren Arbeit über Hühnerspirochäten habe ich die angeführten Zeichnungen noch für synonym gehalten. v. Prowazek.

2) Löwenthal hat diese als *Sp. microgyrata* bezeichnet.

3) Löwenthal, W., Zur Kenntnis der Mundspirochäten. (Med. Klinik. 1906. No. 11.)

Loefflers Methode gefärbt wurde, in einigen Fällen sowohl die undulierende Membran, als auch den Periplast, der sich von dem intensiv rot gefärbten, wohl chromatinhaltigen Kernstab (vergl. Zentralkörper) zurückgezogen hatte, mit aller Deutlichkeit zur Darstellung zu bringen (Fig. 5—7). Die Isolierung des Periplasts vom übrigen Zellleib, die in einigen Fällen eintritt (Fig. 8), ist wohl so zu erklären, daß durch den Zusatz destillierten Wassers die Verbindung des Zellinhaltes mit dem Periplast, der auf dem Deckglase früher angetrocknet ist, gelockert wird, in ähnlicher Weise, wie dies auch Bütschli<sup>1)</sup> für die von ihm gesehene Membran des *Spirillum volutans* angibt. Ähnliche Isolierungsbilder des Periplasts wurden auch bei der Hühnerspirochäte gelegentlich wahrgenommen. Die hier angeführte Darstellungsmethode der undulierenden Membran besitzt insofern eine Grenze, als bei noch weiter vorschreitender Verquellung auch der Periplast davon ergriffen wird und nun die Differenzen zwischen ihm und der undulierenden Membran verschwinden; dabei kommt in den so behandelten Präparaten der sogenannte Kernstab, dem seitlich häufig chromatinartige Kügelchen anliegen, deutlich zur Darstellung.

Seitliche Geißeln wurden nie beobachtet; auch kann aus der Art der Bewegung des flexiblen, Undulationen unterworfenen Körpers nicht auf das Vorhandensein eines derartigen Lokomotionsapparates geschlossen werden. Die *Spirochaeta buccalis* schlängelt sich oft aalartig ganz dicht an Pilzfäden vorbei, legt sich diesen auch an, was bei Vorhandensein einer peritrichen Bewimperung ebenso schwer möglich wäre, als wenn sich zwei Spirochäten um ihre Achsen ganz eindrehen. Da die von uns untersuchten Spirochäten selten agglomerieren und nur selten Periplastanhänge führen, kann bei dieser Form auch durch aufgefaserte Periplastmyophane, sowie durch abgerissene, sich aufpinzelnde Periplastgeißelanhänge, die nach der Agglomeration seitlich am Zellleib hängen bleiben, eine peritriche Begeißelung im nach Loeffler gefärbten Präparat nicht vorgetäuscht werden, wie dies bei der Hühner- und Recurrensspirochäte der Fall zu sein scheint.

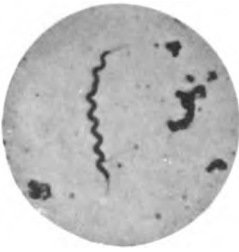
Bezüglich des Verhaltens der Mundspirochäten Reagentien gegenüber, sei hier in Kürze mitgeteilt, daß diese Lebewesen im Gegensatz zu den Mundbakterien durch verdünnte Kalilauge ebenso wie durch verdünnte Salpetersäure aufgelöst werden; unter dem Einflusse von verdünnter Salzsäure quellen sie etwas auf, in 10-proz. Sodalösung blassen sie ebenso wie in Eau de Javelle (Liquor kali hypochlor.) im Gegensatz zu den Bakterien ab.

Neben den Spirochäten wurde in den nach Loeffler gefärbten Präparaten das *Spirillum sputigenum* mit der äußerst charakteristischen, von der Konkavseite des sichelförmigen beweglichen Körpers abgehenden Geißel, die zuerst Löwenthal<sup>2)</sup> beschrieben hat, beobachtet. Die Geißel pinselt sich manchmal in mehrere Fäden auf; zuweilen bemerkt man 2 Geißeln, die auf eine Teilung des Körpers, die vielleicht keine typische Querteilung ist, sondern mehr schief zur Achse des Organismus erfolgt, hinweisen. Diesen Momenten muß in der Zukunft bei der Einreihung dieses „*Spirillum*“ im System Rechnung getragen werden; auch Löwenthal sprach sich auf Grund der Flexibilität, die auch uns vor-

1) Bütschli, Arch. f. Protistenkunde. Bd. I. 1902.

2) Löwenthal, W., Zur Kenntnis der Mundspirochäten. (Med. Klinik. 1906. No. 11.)





1



2



3



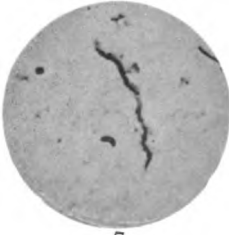
4



5



6



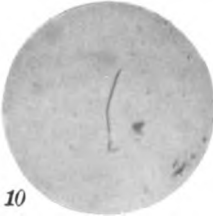
7



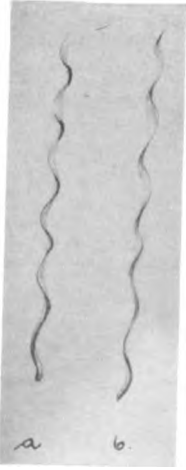
8



9



10



12



a.

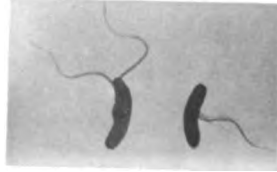


b.

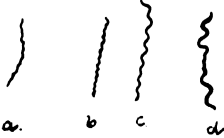


c.

13



14



a.

b.

c.

d.

11

handen zu sein scheint, sowie der Art der Begeißelung gegen dessen Bakteriennatur aus.

### Zusammenfassung.

Aus den angeführten Untersuchungen folgt zunächst, daß die sogenannten „Geißeln“ der Spirochäten, die zuerst Schaudinn bei der *Spirochaeta pallida* (*Treponema pallidum*) nachgewiesen hatte, auch bei anderen Spirochätenarten<sup>1)</sup>, vor allem bei der Balanitisspirochäte, vorkommen und demnach nicht allein der *Spirochaeta pallida* eigentümlich sind; sie entsprechen indessen unserer Ansicht nach nicht Bakteriengeißeln, sondern sind Fortsätze des Periplasts, der bei der *Spirochaeta buccalis* gut darstellbar ist. Die Flexibilität der Spirochäten, die Bandform des Körpers, der mit einer undulierenden Membran ausgestattet ist, sowie ihre eigenartige Teilung (selbst wenn man von der Längsteilung absieht) sprechen für Schaudinns Ansicht, daß die Spirochäten den Protozoen zugehören. Eine endgültige Lösung dieser schwierigen Frage ist jedoch erst von der Feststellung des gesamten Entwicklungszyklus einer Spirochätenart zu erhoffen und wird wohl auch durch die Ergebnisse der Züchtung, die unter anaeroben Bedingungen für die Mundspirochäte Mühlens gelungen ist, gefördert werden.

### Erklärung der Tafel.

Fig. 1. Balanitisspirochäte mit 2 kurzen, mit breiter Basis entspringenden Endfäden. 1:1500.

Fig. 2. Balanitisspirochäte mit 2 langen Endfäden, von denen der eine an der Basis knotenförmig umgeschlagen ist. 1:1500.

Fig. 3. Balanitisspirochäte mit einem langen, regelmäßig gewellten Endfaden. 1:1500.

Fig. 4. Zwei durch einen Faden verbundene gleichgroße Balanitisspirochäten (Endstadium der Längsteilung). 1:1500.

Fig. 5. *Spirochaeta buccalis* mit Kernstab und verquollenem Periplast. 1:1500.

Fig. 6. *Spirochaeta buccalis*. An der linken Seite Andeutung einer Knoten-(Falten-)bildung der undulierenden Membran. 1:1500.

Fig. 7. *Spirochaeta buccalis* mit 2 durch eine helle Zone geteilten Kernstäben (Endstadium der Längsteilung?). 1:1500.

Fig. 8. Besonders dickes Exemplar der *Spirochaeta buccalis* mit an den Enden deutlich abgehobenem Periplast und über dem Kernstab scharf hervortretendem Randsaum der undulierenden Membran. 1:1500.

Fig. 9. Zwei *Spirochaetae dentium*, das obere Exemplar mit einem Endfaden. 1:1500.

Fig. 10. Besonders lange und sehr eng gewundene *Spirochaeta dentium*. 1:1500.

Fig. 11. *Spirochaeta dentium* a) vom Affen, b, c, d) vom Menschen.

Fig. 12. *Spirochaeta balanitidis* nach dem Leben a) bei hoher, b) bei tiefer Einstellung.

Fig. 13. *Spirochaeta buccalis hominis* a und b) mit Endfaden, c) mit abgehobenem Periplast.

Fig. 14. *Spirillum putigenum* mit Geißeln.

Fig. 1—10 sind getreue Wiedergaben von Mikrophotogrammen, die Hoffmann mit Hilfe der Firma Leitz herstellte. Fig. 11—14 sind von v. Prowazek mit dem Abbeschen Zeichenapparat entworfen worden. Während in Fig. 1—10 die Vergrößerung 1:1500 beträgt, ist sie in Fig. 11 ca. 1:2000 und in Fig. 12—14 annähernd 1:3000.

Einige der Mikrophotogramme (Fig. 5—7) entstammen einem uns von F. Schaudinn überlassenen Präparate.

1) Letztthin haben wir auch bei der *Spirochaeta Vincenti*, die im frischen Präparat ungemein lebhaft beweglich ist, die geißelartigen Fortsätze mittels der Loefflerschen Methode an vereinzelt Exemplaren nachweisen können.



Nachdruck verboten.

## Beitrag zur Kenntnis der geographischen Verbreitung des *Distomum hepaticum*.

Von Dr. S. Salto, Okayama.

Von der Familie der Distomen sind Bau, Entwicklungsgeschichte und pathologisches Verhalten des *Distomum hepaticum* am genauesten erforscht, weil manchmal die Herden der europäischen Weiden stark von ihm befallen wurden. Solche Jahre waren nach Leuckart für Deutschland 1753, 1816, 1817, 1854, 1877, für Frankreich 1809, 1816, 1817, 1820, 1829, 1830, 1853 und 1854 (Davaine), für England 1809, 1816, 1824, 1830, 1853, 1860 (Simonds).

Diesing zählt 19 Arten von Tieren auf, bei denen *Dist. hepat.* mehr oder weniger häufig vorkommt; besonders häufig ist das Auftreten desselben beim Hornvieh. *Dist. hepat.* kann auch im Menschen auftreten und ruft dann mehr oder weniger bedeutende pathologische Veränderungen hervor.

Leuckart hat in seinem Werke über die geographische Verbreitung des *Dist. hepat.* außer den europäischen Ländern noch aufgezählt: Aegypten, Indien, Australien (mit Vandiemensland) und Amerika. In Ost-Asien hat er nur Indien genannt. In China, Korea, Japan gibt es keine wissenschaftlichen Mitteilungen in Bezug auf diesen fürchterlichen Parasiten, denn man hat nicht fest bestimmt, ob *Dist. hepat.* in diesen Ländern vorkommt.

Um mir darüber Gewißheit zu verschaffen, ging ich jeden Sonnabend ins Schlachthaus in Okayama und untersuchte die Eingeweide der geschlachteten Rinder, besonders deren Leber. Vom 5. April bis 7. Juli 1900 habe ich 36 Rinder untersucht. Unter diesen hatten 6 Rinder *Dist. hepat.* in der Leber, also  $16\frac{2}{3}$  Proz., aber die Zahl der Parasiten war in jeder einzelnen Leber sehr gering. (Bidloo spricht von 800, Dupuy von 1000 Parasiten in seltenen Fällen.)

Ich will meinen Befund in Bezug auf die Zahl der Würmer hier angeben:

Tier-No.	I	II	III	IV	V	VI
Anzahl der Parasiten	10	9	1	7	5	6

Alle Rinder waren sehr gesund und vor dem Schlachten fand der Tierarzt keine pathologischen Symptome. Die Leber zeigte auch keine deutliche Veränderung, nur mehr oder weniger Erweiterung der Gallengänge und Bindegewebewucherung in deren Umgebung.

In Okayama ist die Rinderzucht am bedeutendsten in Japan, deshalb werden viele Tiere in andere Provinzen verschickt, infolgedessen muß nach meiner Ansicht *Dist. hepat.* auch in anderen Provinzen Japans verbreitet sein, aber man hat noch nie von Leberegelsucht gehört.

Der Zweck dieser Zeilen soll also die Mitteilung sein, daß in Japan *Dist. hepat.* mindestens zu  $16\frac{2}{3}$  Proz. bei Rindern in Okayama und Umgebung vorkommt.

*Nachdruck verboten.*

# Weitere Untersuchungen über den Mechanismus der Agglutination und Präzipitation.

## II. Teil.

[Aus dem k. k. hygienischen Institut der Jagellonischen Universität Krakau.  
Vorstand Prof. O. Bujwid.]

Von Dr. **Philipp Eisenberg**, Assistenten am Institut.

(Schluß.)

Weiter versuchte ich festzustellen, worauf diese verminderte Agglutinabilität beruht, nämlich ob sie auf eine Verminderung der Moleküle agglutinabler Substanz zurückzuführen ist (dafür schien die herabgesetzte Beweglichkeit sowie die nach Nicolle und Trénel verminderte Fähigkeit der Anregung von Agglutininproduktion im Versuchstiere zu sprechen) oder aber auf Veränderungen im Molekül selbst und zwar entweder nur in seiner fällbaren Gruppe oder in beiden. Eine Antwort hierauf gab ein Versuch, in dem ein agglutinierendes Serum vergleichsweise der Absorption durch die bei 42° C gewachsene sowie durch die gewöhnliche Kultur unterworfen wurde. Das Experiment zeigte keine Differenz in der Absorptionsfähigkeit beider Kulturen, wodurch sowohl die erste Eventualität als auch die Annahme einer Veränderung an der bindenden Gruppe ausgeschlossen wurde (s. Tab. LXXX).

Tabelle LXXX. (Prot. No. 52. 4. Jan. 1904.)

Ser. v. Pf. No. 37. 30. Nov. 1903. B. typhi Z. XLI. Gener. bei 42° (Bouillon). — B. typhi Z. gew. Bouillonkultur. Das Serum wird mit jeder der Kulturen ae. zusammengebracht, nach eingetretener Agglutination die klare obere Flüssigkeit abgehoben und ihr Ag.-W. gegenüber einer Agaraufschw. v. B. typhi Z. bestimmt. Resultat n. 2 Std. u. 24 Std.

Verd. d. ob. Flüss.	Ob. Fl. { Ser. B. typhi 42°	— 1/2 — 1/2	Ob. Fl. { Ser. B. typhi gew.	— 1/2 — 1/2
1/50	f. v.	v.	f. v.	f. v.
1/100	f. v.	v.	f. v.	v.
1/200	f. v.	v.	f. v.	v.
1/400	f. v.	v.	f. v.	v.
1/600	f. v.	v.	f. v.	v.
1/900	f. v.	v.	f. v.	v.
1/1200	f. v.	v.	f. v.	v.
1/1800	f. v.	v.	f. v.	v.
1/2400	f. v.	f. v.	u. v.	f. v.
1/3000	u. v.?	f. v.	st. Sp.	f. v.
1/4000	Fl.	st. Sp.	k.	Sp.
1/6000	k.	Sp.?	k.	Sp.?
C	k.	k.	—	—

Der andere Weg, auf dem die Intaktheit der bindenden Gruppen der 42°-Bakterien nachgewiesen werden konnte, war die Prüfung ihrer antigenen Funktion im tierischen Organismus. Nicolle und Trénel hatten behauptet, diese Fähigkeit sei bei ihnen herabgesetzt. Ein Kaninchen, dem ich einigemal bei 42° C gezüchtete Bouillonkultur intravenös injizierte, lieferte ein Serum von einem Ag.-W. von über 2500 Ag.-E. Das Serum zeigte insofern ein besonderes Verhalten, als es 1 Stunde auf 62°—63° C erhitzte Agaraufschwemmungen in demselben Grade

agglutinierte wie lebende Bakterien, ein Verhalten also, wie es Sera zeigen, die durch Immunisierung mit erhitzten Bakterien erlangt werden. Andererseits agglutinierte ein derartiges Serum die 42°-Bakterien in recht hohem Grade (Tab. LXXIX, III).

Daraus würde folgen, daß eine Kultur durch Züchtung bei 42° C eine eben solche „Zustandsänderung“ (Pick und Obermeyer. Paltauf) erleidet wie beim Erhitzen auf 62°–63° C, d. h. daß die fällbare Gruppe gegenüber den durch lebende Bakterien hervorgerufenen Agglutininen stark geschädigt ist, daß dagegen die durch sie provozierten Agglutinine in gleichem Maße auf erhitze wie auf unerhitzte Bakterien einwirken. Es folgt daraus weiter, daß die Anwesenheit der agglutinierbaren Substanz ein sehr konstantes Merkmal ist, an dem dysgenetische Bedingungen nur soviel ändern können, daß die fällbare Gruppe modifiziert oder atrophisch wird. Diese „Zustandsänderung“ ist jedoch nicht konstant; in gewöhnliche Lebensbedingungen zurückgebracht, kehren die bei 42° C gehaltenen Kulturen nach einigen Generationen wieder zur Norm zurück, indem ihre Beweglichkeit und Agglutinabilität zurückkehren und die fadenförmigen Formen, die für die 42°-Kultur charakteristisch sind (ähnliche haben Walker und Murray bei Typhuskulturen mit Zusatz von Farbstoffen gesehen), verschwinden. Zu ähnlichen Schlüssen gelangte Kirstein in seinen Untersuchungen über die Agglutinabilität des *B. prodigiosum*; die bei 37° C gewachsenen Kulturen dieses Bakteriums sind farblos und schlecht agglutinabel, ohne jedoch die Fähigkeit einzubüßen, das spezifische Agglutinin zu binden. Natürlich muß diese Konstanz der agglutinierbaren Substanz als Artmerkmal nicht bei allen Bakterienarten in gleichem Grade vorhanden sein; bei Rauschbrandbacillen genügen schon relativ wenig eingreifende Aenderungen der biologischen Bedingungen zum Auftreten agglutinatorisch differenter Rassen (Grassberger und Schattenfroh), während bei Typhusbakterien tiefgreifende Aenderungen der Lebensbedingungen dazu nötig sind. Die im infizierten Organismus bei diesen Bakterien entstehenden Modifikationen verschwinden gewöhnlich nach einer kürzeren oder längeren Reihe von Generationen, wie von zahlreichen Forschern festgestellt worden ist und wie ich selbst an den drei in meiner Arbeit „Ueber die Anpassung der Bakterien an die Abwehrkräfte des infizierten Organismus“ beschriebenen Stämmen habe beobachten können.

Einen interessanten Beitrag zu dieser Frage bildet die Geschichte des Stammes, der seiner Zeit von Schmidt als neuer Paratyphusstamm beschrieben wurde. In meinem Vortrag „Ueber die neuesten Errungenschaften der Bakteriologie auf dem Gebiete des Abdominaltyphus“ (1902. p. 39. [Polnisch.]) habe ich die Vermutung ausgesprochen, daß dieser Stamm in Wirklichkeit nur ein schwer agglutinabler Typhusstamm sein dürfte. Eine gleiche Vermutung hat unabhängig von mir Korte ausgesprochen und bestätigt. Der von Král in Prag bezogene Stamm hat sich denn auch in meinen Händen als schwer agglutinabler Typhusstamm erwiesen. Ein Pferdetyphusserum von einem Ag.-W. = 10 000 Ag.-E. brachte ihn nur bis  $\frac{1}{1000}$  zur Agglutination, ein Kaninchenserum (Ag.-W. = 15 000 Ag.-E.) ebenfalls nur bis  $\frac{1}{1000}$ . In beiden Fällen aber folgte der letzten „unvollkommenen“ Reaktion, die bei unserer Meßmethode als Grenzverdünnung betrachtet wird, eine längere Zone schwächerer Reaktion, die wir als „starke Spur“ zu bezeichnen pflegen (bis  $\frac{1}{10000}$  im ersten und bis  $\frac{1}{6000}$  im zweiten Fall). Ein direkter Beweis für die Typhusnatur des betreffenden Stammes war darin gegeben, daß ein

Kaninchen nach einmaliger intravenöser Injektion seiner Kultur den Schmidtschen Stamm sowie einen authentischen Laboratoriumsstamm bis über  $\frac{1}{2500}$  hinaus agglutinierte, nach 3 Injektionen aber bis  $\frac{1}{20000}$ . Interessante Resultate gaben Versuche mit spezifischer Agglutininabsorption; in zwei mit zwei verschiedenen Seris durchgeführten Versuchen ergab sich übereinstimmend eine geringere Absorption durch den Schmidtschen Stamm als durch den Laboratoriumsstamm. Da die Bakterien die Tendenz haben, sich mit Agglutinin zu übersättigen, können in solchen Versuchen natürlich nur bei größeren Agglutininmengen deutliche Differenzen zu Tage treten, wie aus Tab. LXXXII ersichtlich ist.

Tabelle LXXXI. (Prot. No. 89. 19. Mai 1904.)

I. Ser. v. Pf. No. 37. 30. Nov. 1903 + B. typhi Z. Agaraufschw. ää.

II. Ser. v. Pf. No. 37. 30. Nov. 1903 + B. typhi Schmidt. Agaraufschw. ää.

Nach erfolgter Agglutination wird die klare obere Flüss. in beiden Proben abgehoben und ihr Ag.-W. an einer Agaraufschw. v. B. typhi Z. bestimmt. Resultat n. 18 Std.

Ser.-Verd.	Flüss. I	Flüss. II	Ser.-Verd.	Flüss. I	Flüss. II
$\frac{1}{1000}$	f. v.	f. v.	$\frac{1}{5000}$	k.	u. v.?
$\frac{1}{1500}$	u. v.?	f. v.	$\frac{1}{6000}$	k.	st. Sp.
$\frac{1}{2000}$	u. v.?	f. v.	$\frac{1}{7500}$	k.	Sp.
$\frac{1}{2500}$	st. Sp.	u. v. +	$\frac{1}{10000}$	k.	Sp.?
$\frac{1}{3000}$	Sp.	u. v.	C	k.	k.
$\frac{1}{4000}$	Sp.?	u. v.?			

Tabelle LXXXII. (Prot. No. 91.)

Ser. v. Pf. No. 37. 1902. (Ag.-W. = 60 000 Ag.-E.)

Es werden Aufschwemmungen von Agarkulturen von B. typhi Z. und B. typhi Schmidt in konzentriertem Serum sowie in Verd.  $\frac{1}{10}$  und  $\frac{1}{100}$  bei Einhaltung gleicher Mengenverhältnisse hergestellt; nach erfolgter Agglutination wurde in allen Proben die klare obere Flüss. abgehoben und ihr Ag.-W. gegenüber einer Agaraufschw. v. B. typhi Z. bestimmt.

Ob. Flüss. v. B. typhi Schmidt			Ob. Flüss. v. B. typhi Z.		
Ser.-Verd.	2 Std.	24 Std.	2 Std.	24 Std.	
	OFS $\frac{1}{10}$			OFS $\frac{1}{10}$	
$\frac{1}{10000}$	u. v.?	u. v.	u. v.?	u. v.	
$\frac{1}{12500}$	u. v.?	u. v.	u. v.?	u. v.	
$\frac{1}{15000}$	u. v.?	u. v.	st. Sp.	u. v.?	
$\frac{1}{20000}$	u. v.?	u. v.	st. Sp.	u. v.?	
$\frac{1}{25000}$	st. Sp.	u. v.?	st. Sp.	u. v.?	
$\frac{1}{30000}$	st. Sp.	u. v.?	st. Sp.	u. v.?	
$\frac{1}{37500}$	st. Sp.	u. v.?	Sp.	st. Sp.	
$\frac{1}{50000}$	Sp. +	u. v.?	Fl.	st. Sp.	
	OFS $\frac{1}{100}$			OFS $\frac{1}{100}$	
$\frac{1}{5000}$	st. Sp.	u. v.	u. v.?	u. v.	
$\frac{1}{6000}$	st. Sp.	u. v.	u. v.?	u. v.	
$\frac{1}{7500}$	st. Sp.	u. v.	u. v.?	u. v.	
$\frac{1}{10000}$	st. Sp.	u. v.	st. Sp.	u. v.?	
$\frac{1}{12500}$	Sp. +	u. v.?	st. Sp.	u. v.?	
$\frac{1}{15000}$	Sp. +	u. v.?	Sp. +	u. v.?	
$\frac{1}{18750}$	Sp. +	u. v.?	Sp. +	u. v.?	
$\frac{1}{25000}$	Sp.	u. v.?	Sp. +	st. Sp.	
	OFS $\frac{1}{1000}$			OFS $\frac{1}{1000}$	
$\frac{1}{2000}$	u. v.	u. v.	u. v.	u. v.	
$\frac{1}{2500}$	u. v.?	u. v.	u. v.?	u. v.	
$\frac{1}{3000}$	u. v.?	u. v.	u. v.?	u. v.	
$\frac{1}{4000}$	u. v.?	u. v.	u. v.?	u. v.	
$\frac{1}{5000}$	u. v.?	u. v.	u. v.?	u. v.	
$\frac{1}{6000}$	u. v.?	u. v.	u. v.?	u. v.	
$\frac{1}{75000}$	u. v.?	u. v.	u. v.?	u. v.	
$\frac{1}{100000}$	u. v.?	u. v.	u. v.?	u. v.?	
	C.	k.	k.		

Das Resultat dieser Versuche stimmt überein mit denen, die Müller Cole und Friedberger bei ähnlichen Untersuchungen erlangt haben, und spricht dafür, daß in manchen Fällen einer verminderten Agglutinabilität auch eine verringerte Zahl von Agglutininrezeptoren entspricht.

Was die Umwandlung in umgekehrter Richtung, d. i. eine Steigerung der Agglutinabilität betrifft, ist bis jetzt nur eine von Sehwald herführende Beobachtung bekannt. Nach diesem Autor sollen Typhusbacillen, die auf Kartoffeln oder auf anderen Nährböden mit Zusatz von Kartoffelsaft gezüchtet werden, ohne Rücksicht auf die Reaktion der Kartoffel besser und schneller sich agglutinieren lassen, als normale. Einige Nachuntersuchungen, die ich angestellt habe, haben ein vollkommen negatives Resultat ergeben; die Bakterien von der Kartoffel waren absolut inagglutinabel, was durch die deutlich saure Reaktion der Aufschwemmung genügend erklärt wird, die, wie wir wissen, keine Agglutination zuläßt.

Außer diesen Differenzen der Agglutinabilität, die entweder manche bestimmte Generationen betreffen oder durch eine gewisse Reihe von Generationen erblich festgehalten werden oder endlich ein konstantes Stammesmerkmal bilden, kann es auch noch individuelle Variationen davon geben, auf die meines Wissens noch nicht hingewiesen worden ist. Das, was wir die Agglutinabilität einer bestimmten Kultur nennen, ist eigentlich die Resultante der individuellen Agglutinabilitäten der in der Kultur enthaltenen Individuen. Bei Einwirkung größerer Agglutininmengen, d. i. wenn vollständige Reaktion eintritt, können diese Unterschiede nicht zu Tage treten; wenn wir dagegen eine kleinere Agglutininmenge verwenden und verschiedene intermediäre Agglutinationsgrade auftreten, die „fast vollkommene“, „unvollkommene“, „starke Spur“ und „Spur“, dann zeigt es sich, daß verschiedene Individuen auf ein und dieselbe Serumkonzentration verschieden reagieren. Die leichter agglutinablen fallen zu Boden, die schwer agglutinablen bleiben suspendiert, wodurch sie die Trübung der über dem Bodensatz stehenden Flüssigkeit bedingen. Daß dem wirklich so ist, läßt sich durch entsprechend angeordnete Versuche feststellen. Den Ausgangspunkt für derartige Versuche bildete für mich die Beobachtung, daß Typhus- und Ruhrkulturen in Ascitesbouillon (Asc.  $\frac{1}{2}$ ) eine mehr oder weniger herabgesetzte Agglutinabilität zeigten. In solchen Kulturen entsteht gewöhnlich ein Boden-

Tabelle LXXXIII. (Prot. No. 228. 21. April 1905.)

Ser. v. Pf. No. 37. 30. Okt. 1903 20 Min. auf 68° C erh. B. typhi Z. 3-tägige Bouillonkultur u. 3-tägige Kultur in Ascitesbouillon. Resultat n. 2 Std. (50°) u. 24 Std. (Z. T.)

Ser.-Verd.	gew. 3-tägige Bouillonkultur	3-tägige Ascitesbouillonkultur		
$\frac{1}{10}$	st. Fl.	u. v. +	k.	k.
$\frac{1}{20}$	u. v. ?	u. v. +	k.	k.
$\frac{1}{40}$	u. v.	f. v.	k.	k.
$\frac{1}{80}$	u. v.	f. v.	k.	k.
$\frac{1}{160}$	u. v. +	f. v.	k.	k.
$\frac{1}{320}$	u. v. +	f. v.	k.	k.
$\frac{1}{640}$	u. v. +	f. v.	k.	k.
$\frac{1}{1280}$	u. v. +	f. v.	k.	k.
$\frac{1}{2560}$	u. v.	f. v.	k.	k.
$\frac{1}{5120}$	k.	st. Sp.	k.	k.
$\frac{1}{10240}$	k.	k.	k.	k.
C	k.	k.	k.	k.

Tabelle LXXXIV. (Prot. No. 238a. 1. Mai 1905.)

Ruhrserum a. d. Lab. L. W. Gans  $\frac{1}{2}$ , Std. 52—54° C erh.; B. dysenteriae St. Nepustil. 1-tägige Bouillonkultur und 1-tägige Ascitesbouillonkultur. Resultat n. 4 Std. (50°) u. 24 Std. (Z. T.)

Ser.-Verd.	gew. 1-tägige Bouillonkultur	1-tägige Ascitesbouillonkultur		
$\frac{1}{10}$	k.	k.	k.	k.
$\frac{1}{30}$	k.	Sp.?	k.	k.
$\frac{1}{40}$	k.	Sp.	k.	k.
$\frac{1}{80}$	k.	Sp.	k.	k.
$\frac{1}{160}$	k.	st. Sp.	k.	k.
$\frac{1}{320}$	Fl.	v.	k.	k.
$\frac{1}{640}$	Fl.	v.	k.	k.
$\frac{1}{1280}$	Fl.	v.	k.	k.
$\frac{1}{2560}$	f. Fl.	f. v.	k.	k.
$\frac{1}{5120}$	k.	st. Sp.	k.	k.
$\frac{1}{10240}$	k.	Sp.	k.	k.
C	k.	k.	k.	k.

satz von Bakterien, die darüberstehende Flüssigkeit ist durch Bakterien stark getrübt.

In anderen Versuchen wurde eine Typhusascitesbouillonkultur von einem Serum vom Ag.-W. = 80 000 Ag.-E. bis  $\frac{1}{15000}$  agglutiniert, eine Ruhrkultur bis zu  $\frac{1}{320}$  von einem Serum mit Ag.-W. = 10 000 Ag.-E. Diese Resultate sind nicht bei jeder Ascitesflüssigkeit gleich, es gibt auch solche, in denen die Kulturen fast normale Agglutinabilität aufweisen. Bei der Frage nach der Ursache dieser Erscheinung war die erste Vermutung, die sich aufdrängte, daß die Ascitesflüssigkeit an sich etwa wie der Kartoffelsaft die Agglutination hemme. Dieser Annahme widerspricht aber der Versuch, der zeigt, daß eine Agarkultur, in dieser Flüssigkeit aufgeschwemmt, eine ebensolche Agglutination zeigt, wie eine Aufschwemmung in Kochsalz. Man mußte also in einer anderen Richtung die Ursache verfolgen; das Aussehen der Ascitesbouillonkultur weist darauf hin, daß in dieser Flüssigkeit die Kultur teilweise agglutiniert wird. Tatsächlich zeigt der Versuch in vitro, daß eine solche Flüssigkeit in Verdünnungen  $\frac{1}{2}$ — $\frac{1}{4}$  agglutiniert, also in eben der Konzentration, in der er der Bouillon beigemischt ist. Als einfachste Erklärung wäre also anzunehmen, daß angesichts der schwachen Agglutinkonzentration im Kulturmedium eine Auswahl der leichter agglutinablen Bakterien erfolgt und dieselben nun zu Boden sinken, daß aber die schwer agglutinablen sich als Trübung schwebend erhalten und daß sie bei Agglutinationsproben, zu denen man eben die getrühte obere Flüssigkeit verwendet, sich als agglutininresistent erweisen. Viel prägnanter sind noch Versuche, in denen man willkürlich die Auswahl schwer agglutinabler Bakterien vornehmen kann. In dem in Tab. LXXXV wiedergegebenen Versuch wurde zu einer dichten Agar aufschwemmung von Typhusbakterien Typhusferdeserum (Ag.-W. = 80 000 Ag.-E.) in einer Verdünnung von  $\frac{1}{20000}$  zugesetzt. Nachdem unvollkommene Agglutination eingetreten war, wurde die trübe obere Flüssigkeit abgehoben und parallel mit der auf gleichen Trübungsgrad verdünnten ursprünglichen Aufschwemmung auf ihre Agglutinabilität geprüft. Während nun die Original emulsion bis  $\frac{1}{81920}$  agglutiniert wird, gibt die obere Flüssigkeit Agglutination nur bis  $\frac{1}{1280}$ , also 64mal schwächere. Sodann wurde noch eine zweite Auswahl vorgenommen; die bei der ersten Auswahl erhaltene obere Flüssigkeit wurde der Verdünnung des Serums  $\frac{1}{1280}$  ausgesetzt. Nach eingetretener unvollkommener Agglutination wird

wieder die trübe obere Flüssigkeit (II) sowie die Originalaufschwemmung mit spezifischem Serum geprüft. Die zweite Flüssigkeit zeigt nun Agglutination bis  $\frac{1}{320}$ , die ursprüngliche bis  $\frac{1}{81920}$  ist also 250mal empfindlicher. In diesem Versuch kann natürlich keine Rede sein von der Wirkung von Proagglutinoiden, die in dem zur Auswahl benutzten Serum enthalten wären, da in den verwendeten Verdünnungen das betreffende Serum keine Spur von Hemmung zeigt. Ja es sollte eigentlich die Agglutininmenge, die die Bakterien der oberen Flüssigkeit diesen Verdünnungen entziehen, ihre sekundäre Agglutination begünstigen, wie die Versuche von Joos gezeigt haben. Die Resultate solcher Versuche sind übrigens nicht immer so prägnant, wie die in

Tabelle LXXXV. (Prot. No. 244. 5. Mai 1905.)

Agaraufschw. v. *B. typhi* Z. + Ser. v. Pf. No. 11 1904  $\frac{1}{20000}$ ; nach eingetretener unvollk. Aggl. wird die abgehobene obere Flüss. (I) und die auf denselben Trübungsgrad verdünnte Originalaufschw. mit Ser. v. Pf. No. 11 1904 geprüft. Resultat n. 3 Std. (50°) u. 24 Std. (Z. T.)

Ser.-Verd.	Obere Flüssigkeit I		Originalaufschwemmung	
$\frac{1}{320}$	u. v. +	f. v.	f. v.	v.
$\frac{1}{640}$	u. v.	f. v.	f. v.	v.
$\frac{1}{1280}$	st. Sp.	u. v. +	f. v.	v.
$\frac{1}{2560}$	k.	st. Sp.	f. v.	f. v.
$\frac{1}{5120}$	k.	Sp.?	u. v. +	u. v. +
$\frac{1}{10240}$	k.	k.	u. v.	u. v. +
$\frac{1}{20480}$	k.	k.	u. v.	u. v.
$\frac{1}{40960}$	k.	k.	st. Sp.	u. v.
$\frac{1}{81920}$	k.	k.	st. Sp.	u. v.
$\frac{1}{163840}$	k.	k.	k.	st. Sp.
C	k.	k.	k.	k.

Zur oberen Flüss. I wird Ser. v. Pf. No. 11 1904  $\frac{1}{1280}$  zugesetzt; nach eingetretener unvollkommener Agglutination wird die abgehobene trübe obere Flüss. (II) und die Originalaufschw. (auf den gleichen Trübungsgrad verdünnt) wieder auf Agglutinabilität mit demselben Serum geprüft. Resultat n. 3 Std. (50°) u. 24 Std. (Z. T.)

Ser.-Verd.	Obere Flüssigkeit II		Ser.-Verd.	Originalaufschwemmung	
$\frac{1}{320}$	Sp.	u. v. +	$\frac{1}{10240}$	u. v. +	u. v. +
$\frac{1}{640}$	Sp.?	st. Sp.	$\frac{1}{20480}$	u. v.	u. v. +
$\frac{1}{1280}$	Sp.?	Sp.	$\frac{1}{40960}$	st. Sp.	u. v.
$\frac{1}{2560}$	k.	k.	$\frac{1}{81920}$	st. Sp.	u. v.
—	—	—	$\frac{1}{163840}$	k.	st. Sp.
C	k.	k.	C	k.	k.

Tab. LXXXV dargestellt; zuweilen ist die Agglutinabilität der ausgewählten Bakterien nur 2—4mal geringer als die normaler. Außer an Typhus- und Ruhrbakterien habe ich die Erscheinung auch an Schweinerothlaufbakterien und Choleravibrionen wiedergefunden. Wir wissen natürlich vorderhand nicht, ob diese verschiedene individuelle Agglutinabilität erblich übertragen wird, d. h. ob wir in der ganzen Kultur eine Mischung von einigen Rassen von verschiedener Agglutinabilität vor uns haben oder ob es eine Variation eines Merkmals in bestimmter Breite ist, derart, daß wir unter der Nachkommenschaft einer schwer agglutinablen Zelle die Gänge der Empfindlichkeit wiederfinden. Die Entscheidung dieser Frage sowie derjenigen, ob sich in analoger Weise eine Auswahl hyperagglutinabler Individuen treffen läßt, könnte nur durch successive Kulturen der ausgewählten Bakterien erlangt werden.

Es ist nicht ausgeschlossen, daß man auf diese Weise zu konstanten Rassen von verschiedener Agglutinabilität gelangen könnte. Versuche in dieser Richtung gedenke ich in nächster Zeit auszuführen. Die hier beschriebenen Differenzen in der Agglutinabilität können eine gewisse praktische Bedeutung haben, wenn es sich um Untersuchung von Typhuskulturen handelt, die aus dem Blute der Kranken nach der Castellani-Courmontschen Methode gewonnen sind. Diese Bakterien entwickeln sich in einer Bouillon, die 1—4 Proz. des Blutes enthält, das sie meistens agglutiniert. Solche Kulturen werden entweder bei größerem Agglutiningehalt des Blutes vollkommen agglutiniert und als solche zu Versuchen über Agglutinabilität des betreffenden Stammes untauglich sein, oder aber wir werden über dem Bodensatz agglutinierten Bakterien eine getrübe Flüssigkeit finden, die in Uebereinstimmung mit dem oben Gesagten sich als hypagglutinabel erweisen kann. Daher ist es immer angezeigt, zur Agglutinabilitätsprüfung solcher Kulturen nur die zweite in agglutininfreiem Medium gewachsene Generation zu verwenden, wie ich das schon in meiner Arbeit „Ueber die Anpassung der Bakterien an die Abwehrkräfte des infizierten Organismus“ hervorgehoben habe. Aehnlich angeordnete Versuche, wenn auch von einem ganz verschiedenen Gedankengang geleitet, hat mit gleichem Erfolg Bail ausgeführt, deutet sie aber in ganz anderer Weise. In seinen Versuchen hat Bail auf 60° C erwärmtes Serum verwendet und glaubt, daß die darin enthaltenen Agglutinoide die spätere Agglutination hemmen (Versuch LI—LIX von Bail). Ich möchte demgegenüber darauf aufmerksam machen, daß in Versuch LV—LIX von Bail Bakterien, welche der Wirkung des unerhitzten Serums ausgesetzt waren, sich ebenso agglutininresistent zeigen, wie diejenigen, auf die auf 60° C resp. 75° C erhitztes Serum gewirkt hat. Diese Tatsache dürfte wohl eher für meine Auffassung dieser Vorgänge sprechen (Auswahl der agglutininresistenten Individuen) als für diejenige von Bail (Anwesenheit von Agglutinoiden in frischem verdünnten Serum und zwar in solcher Konzentration, daß spätere Agglutination gehemmt wird).

## 2. Ueber die Einwirkung erhöhter Temperatur auf die agglutinierbare Substanz.

Die Untersuchungen von Eisenberg und Volk über den Bau der agglutinierbaren Substanz haben ergeben, daß die Fähigkeit der sichtbaren Niederschlagsbildung von der Bindungsfähigkeit für Agglutinin unabhängig ist und daß durch Einwirkung von Hitze oder Säuren diese Funktionen dissoziiert werden können in der Weise, daß die erste verschwindet, während die andere erhalten bleibt. In meiner Präzipitationsarbeit habe ich sodann ein gleiches Verhalten für die präzipitable Substanz nachgewiesen sowie festgestellt, daß solches erhitztes Eiweiß die Präzipitation von frischem Eiweiß zu hemmen vermag. Auf Grund der nahen Verwandtschaft zwischen Agglutinations- und Präzipitationserscheinungen war anzunehmen, daß auch erhitzte Bakterien die Agglutination unerhitzt hemmen würden. Die in dieser Richtung unternommenen Versuche haben diese Vermutung bestätigt (s. Tab. LXXXVI).

Die eingehendere Untersuchung dieser Hemmung hat ergeben, daß sie nur unter gewissen Umständen zu stande kommt. Es zeigte sich nämlich, daß deutlichste Hemmung mit auf 65°—70° C erhitzten Bakterien zu erreichen ist, daß sie dagegen bei auf 100° C erhitzten ausbleibt (Tab. LXXXVII). Es folgt daraus, daß bei dieser hohen Tem-



Tabelle LXXXVI. (Prot. No. 2. 26. Okt. 1903.)

Ser. v. Pf. No. 37. 23. Febr. 1903. Agaraufschw. v. B. typhi St. Par. M. 33 unerhitzt. Dieselbe  $\frac{1}{2}$  Std. auf 70° C erhitzt.  
In der I. Reihe wirkt das Agglutinin zuerst auf die erhitzten Bakterien, nach 1 Std. werden die unerhitzten zugesetzt. In Reihe II wirkt das Agglutinin gleichzeitig auf beide Arten von Bakterien ein.

Tropfen				I		II	
Erh. Aufsch.	Ser.	Phys. NaCl	Unerh. Aufsch.	n. 2 Std.	n. 24 Std.	n. 2 Std.	n. 24 Std.
6	1 = $\frac{1}{400}$	20	13	f. Fl.	u. v.	f. Fl.	u. v.
6	1 = $\frac{1}{100}$	20	13	Fl.	f. v.	Fl.	f. v.
6	1 = $\frac{1}{40}$	20	13	u. v.	f. v.	u. v.	f. v.
13	1 = $\frac{1}{400}$	13	13	k.	Sp.?	k.	u. v.
13	1 = $\frac{1}{100}$	13	13	Fl.	f. v.	Fl.	u. v.
13	1 = $\frac{1}{40}$	13	13	u. v.	f. v.	Fl.	u. v.
26	1 = $\frac{1}{400}$	0	13	k.	Sp.?	k.	Sp.
26	1 = $\frac{1}{100}$	0	13	Fl.	u. v.	Fl.	u. v.
26	1 = $\frac{1}{40}$	0	13	u. v.	u. v.	Fl.	u. v.
0	1 = $\frac{1}{400}$	26	13	Fl.	f. v.	—	—
0	1 = $\frac{1}{100}$	26	13	Fl.	f. v.	—	—
0	1 = $\frac{1}{40}$	26	13	u. v.	f. v.	—	—
13	1 = $\frac{1}{40}$	26	0	k.	Sp.?	—	—
0	0	27	13	k.	k.	—	—

peratur die Affinität der Bakterienrezeptoren zum Agglutinin herabgesetzt wird, daß sie aber nicht verschwindet, daß die Versuche von Eisenberg und Volk beweisen, daß die Bindungsfähigkeit der Bakterien bis zu 165° C erhalten bleibt. Aus Tab. LXXXVIII ist weiter zu ersehen, daß die Hemmung unter denselben Bedingungen auch bei Ruhrbakterien festgestellt werden kann. Die Hemmung ist aber über-

Tabelle LXXXVII. (Prot. No. 218, 223. 12. April 1905.)

Ser. v. Pf. No. 11 1904. B° Agaraufschw. v. B. typhi Z. B<sup>85</sup>, B<sup>70</sup>, B<sup>100</sup> dieselbe durch  $\frac{1}{2}$  Std. auf 65° resp. 70° resp. 100° C erhitzt. Die Aufschwemmung wird in 2 Teilen zugesetzt (erhitzte dann unerh. resp. unerh. dann unerh.), der zweite 1 Std. nach dem ersten. Resultat n. 2 Std. u. 24 Std.

## I.

Ser.-Verd.	Tropfen								
	B <sup>85</sup> 2 — B <sup>0</sup> 2		B <sup>0</sup> 2 — B <sup>0</sup> 2			B <sup>85</sup> 8 — B <sup>0</sup> 2		B <sup>0</sup> 8 — B <sup>0</sup> 2	
$\frac{1}{40960}$	k.	st. Sp.	st. Fl.	st. Sp.	u. v.	k.	k.	st. Fl.	u. v.
$\frac{1}{20480}$	Fl.	st. Sp.	st. Fl.	st. Sp.	u. v. +	k.	Sp.?	u. v.?	u. v.
$\frac{1}{10240}$	st. Fl.	st. Sp.	st. Fl.	u. v.	u. v. +	k.	st. Sp.	u. v.	u. v. +
$\frac{1}{5120}$	st. Fl.	u. v.?	st. Fl.	u. v.	u. v. +	Fl.?	u. v.?	u. v.	u. v. +
$\frac{1}{2560}$	st. Fl.	st. Sp.	u. v. +	st. Fl.	u. v.	f. v.	Fl.	u. v.	u. v. +
0	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	Sp.?

## II.

Ser.-Verd.	Tropfen								
	B <sup>70</sup> 2 — B <sup>0</sup> 2		B <sup>0</sup> 2 — B <sup>0</sup> 2		B <sup>70</sup> 8 — B <sup>0</sup> 2		B <sup>0</sup> 8 — B <sup>0</sup> 2		
$\frac{1}{40960}$	k.	st. Sp.	Sp. Fl.	u. v.	k.	Sp.?	Sp. Fl.	u. v.	
$\frac{1}{20480}$	Fl.	st. Sp.	st. Sp. Fl.	u. v. +	k.	st. Sp.	st. Sp. Fl.	u. v. +	
$\frac{1}{10240}$	st. Fl.	st. Sp.	u. v.	u. v. +	Fl.	u. v.	u. v.	u. v. +	
$\frac{1}{5120}$	st. Sp. Fl.	u. v. +	u. v.	f. v.	st. Sp. Fl.	u. v.	u. v.	u. v. +	
$\frac{1}{2560}$	u. v.	u. v. +	u. v. +	f. v.	u. v.	u. v.	u. v. +	f. v.	
0	k.	k.	k.	Sp.	k.	Sp.?	k.	u. v.	

## III.

Ser.- Verd.	Tropfen							
	B <sup>100</sup> 2 — B <sup>0</sup> 2		B <sup>0</sup> 2 — B <sup>0</sup> 2		B <sup>100</sup> 8 — B <sup>0</sup> 2		B <sup>0</sup> 8 — B <sup>0</sup> 2	
<sup>1</sup> / <sub>40960</sub>	st. Fl.	u. v.	Fl.	u. v.	st. Fl.	u. v.?	k.	st. Sp.
<sup>1</sup> / <sub>20480</sub>	st. Fl.	u. v.	st. Fl.	u. v.	st. Fl.	u. v.?	u. v.	u. v.
<sup>1</sup> / <sub>10240</sub>	u. v.	u. v.	u. v.	u. v. +	st. Fl.	u. v.	u. v.	u. v. +
<sup>1</sup> / <sub>5120</sub>	u. v.	u. v. +	u. v. +	u. v. +	st. Fl.	u. v.	u. v.	u. v. +
<sup>1</sup> / <sub>2560</sub>	u. v.	u. v. +	u. v. +	f. v.	u. v.	u. v. +	f. v.	f. v.
0	k.	Sp.	k.	Sp.	k.	Sp.	k.	st. Sp.

haupt ziemlich schwach, da sie selbst bei vorherigem Zusammenbringen der erhitzten Bakterien mit Serum nur gegenüber schwachen Serumkonzentrationen auftritt. Man könnte daraus den Schluß ziehen, daß die Affinität der erhitzten Bakterien zum Agglutinin entweder derjenigen der unerhitzten gleicht oder sie nur wenig übertrifft.

Tabelle LXXXVIII. (Prot. No. 224. 17. April 1905.)

Ruhrserum v. Pf. No. 2. 1904. Agaraufschw. v. B. dysenteriae St. Nepustil = B<sup>0</sup>, dieselbe <sup>1</sup>/<sub>2</sub> Std. auf 65° C erh. = B<sup>65</sup>. Die Aufschwemmung wird in 2 Teilen zugesetzt, der zweite 1 Std. nach dem ersten.

Ser.- Verd.	Tropfen							
	B <sup>65</sup> 2 — B <sup>0</sup> 2		B <sup>0</sup> 2 — B <sup>0</sup> 2		B <sup>65</sup> 8 — B <sup>0</sup> 2		B <sup>0</sup> 8 — B <sup>0</sup> 2	
<sup>1</sup> / <sub>10240</sub>	k.	Sp.?	k.	u. v.?	k.	Sp. +	k.	u. v.?
<sup>1</sup> / <sub>5120</sub>	k.	Sp.	Fl.	u. v.	k.	st. Sp.	st. Fl. Sp.	u. v.?
<sup>1</sup> / <sub>2560</sub>	f. Fl.	u. v.	st. Sp. Fl.	u. v.	st. Sp. st. Fl.	u. v.	st. Fl. st. Sp.	u. v.
<sup>1</sup> / <sub>1280</sub>	st. Fl.	u. v.	st. Sp. Fl.	u. v. +	st. Fl. u. v.	u. v.	u. v.	u. v.
<sup>1</sup> / <sub>640</sub>	st. Fl. st. Sp.	u. v. +	u. v.	u. v. +	st. Fl. u. v.	u. v. +	u. v.	u. v. +
0	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.

Unsere Kenntnisse von der Einwirkung der Hitze auf die agglutinierbare Substanz haben in letzter Zeit eine bedeutende Erweiterung erfahren durch die von Dreyer und Jex-Blake sowie von Porges entdeckte Tatsache, daß Kulturen, die durch Erhitzen inagglutinabel geworden sind, durch weiteres Erhitzen auf 100°—145° C ihre Agglutinabilität wiedererlangen. Bei Nachprüfung dieser Angaben konnte ich sie bei Typhus-, Cholera- und Ruhrbakterien bestätigen sowie einige neue diesbezügliche Beobachtungen anstellen. Es zeigte sich übereinstimmend mit den Befunden obiger Autoren, daß die durch Erhitzen hervorgerufene Agglutinationshemmung durch Erhitzen auf noch höhere Temperaturen zum Verschwinden gebracht werden kann. Das Resultat der Hemmung hängt jedoch in hohem Grade von der Beobachtungszeit sowie von der verwendeten Bakterienmenge ab. Während die Agglutination normaler Bakterien schon nach 2—3 Stunden unweit vom erreichbaren Maximum sich befindet, zeigen die erhitzten Bakterien, wenn sie überhaupt sich agglutinieren lassen, eine stark verspätete Agglutination, die erst nach 8—24 Stunden, zuweilen sogar erst nach 48 bis 72 Stunden eintritt. Andererseits spielt in diesen Versuchen die Bakterienmenge eine bedeutende Rolle; dort, wo einer kleinen Bakterienmenge gegenüber Agglutination ausbleibt oder sehr verspätet eintritt, dort kann sie bei einer größeren Menge vorhanden sein oder früher eintreten. Beide Beobachtungen stimmen damit überein, was wir oben bei der Agglutinationshemmung durch Proagglutinoide festgestellt haben — hier wie dort Abhängigkeit der Resultate von Beobachtungszeit und

Bakterienmenge. In manchen Fällen fand ich in Uebereinstimmung mit Dreyer und Jex-Blake, daß ältere Kulturen weniger hitzeempfindlich waren als jüngere. Für alle diese Beobachtungen finden sich Beispiele in den folgenden Versuchen.

Aus diesen Versuchen folgt weiter, daß Formalinzusatz zu Agar-aufschwemmungen von Typhus und Cholera ihr Verhalten bei der Erhitzung stark beeinflusst. Beim Erhitzen von Typhusbakterien auf 60°–80° C erhält der Formalinzusatz die Agglutinabilität ganz unverändert, bei 100° C dagegen erscheint die Formolaufschwemmung sogar noch empfindlicher als die gewöhnliche. Ein ähnlicher Einfluß macht sich in den Versuchen mit Cholera geltend; bei 75°–80° C sehen wir

Tabelle LXXXIX. (Prot. No. 258. 27. Mai 1905.)

Ser. v. Pf. No. 37 15. Juni 1904 mit 0,5 Proz. Karbolzusatz (Ag.-W. = 80 000 Ag.-E.). Agar-aufschw. v. B. typhi Z. Dieselbe 1 Std. auf 60–62° C erh., in einer Reihe  $\frac{1}{40}$  Gesamtvolumen, in der anderen  $\frac{10}{40}$ . Resultat n. 3  $\frac{1}{2}$  Std. (50°) u. 40 Std. (Z. T.)

Ser.-Verd.	Aufschw. unerh. $\frac{1}{40}$	Erh. Aufschw. $\frac{1}{40}$	Erh. Aufschw. $\frac{10}{40}$
$\frac{1}{2}$	v.	f. v.	u. v.
$\frac{1}{5}$	v.	u. v. +	u. v.
$\frac{1}{10}$	v.	Sp.	u. v.
$\frac{1}{20}$	v.	Sp.?	u. v.
$\frac{1}{40}$	v.	k.	u. v. +
$\frac{1}{80}$	v.	k.	u. v. +
$\frac{1}{160}$	v.	k.	u. v. +
$\frac{1}{320}$	v.	k.	u. v. +
$\frac{1}{640}$	v.	k.	u. v.
$\frac{1}{1280}$	v.	k.	k.
$\frac{1}{2560}$	v.	k.	—
C	k.	k.	k.

Tabelle XC. (Prot. No. 266. 31. Mai 1905.)

Ser. v. Pf. No. 37 15. Juni 1904 mit 0,5 Proz. Karbolzusatz. Agar-aufschw. v. B. typhi Z. 1 Std. auf 61–63° C erh.  $\frac{1}{40}$  resp.  $\frac{8}{40}$  Gesamtvolumen. Dasselbe mit 2,5 Proz. Formol-zusatz 1 Std. auf 61–63° C erh.  $\frac{1}{40}$  resp.  $\frac{8}{40}$  Gesamtvolumen. Resultat n. 1 Std. (50°), 24 Std. (Z. T.) u. 48 Std. (Z. T.)

Ser.-Verd.	Agar-aufschw. 1 Std. 61–63° C erh.						Agar-aufschw. + Formol 1 Std. 61–63° C erh.					
	$\frac{1}{40}$ Vol.			$\frac{8}{40}$ Vol.			$\frac{1}{40}$ Vol.			$\frac{8}{40}$ Vol.		
$\frac{1}{2}$	k.	v.	v.	u. v.	f. v.	v.	f. v.	v.	v.	f. v.	f. v.	f. v.
$\frac{1}{5}$	k.	f. v.	v.	Sp.?	u. v. +	u. v. +	f. v.	v.	v.	f. v.	f. v.	f. v.
$\frac{1}{10}$	k.	f. v.	v.	k.	u. v.	u. v. +	f. v.	v.	v.	u. v. +	f. v.	v.
$\frac{1}{20}$	k.	st. Sp.	f. v.	k.	st. Sp.	u. v.?	f. v.	v.	v.	u. v. +	f. v.	v.
$\frac{1}{40}$	k.	Sp.	st. Sp.	k.	st. Sp.	st. Sp.	f. v.	v.	v.	u. v. +	f. v.	v.
$\frac{1}{80}$	k.	k.	k.	k.	st. Sp.	u. v.?	f. v.	v.	v.	u. v. +	f. v.	v.
$\frac{1}{160}$	k.	k.	k.	k.	st. Sp.	u. v.?	f. v.	v.	v.	u. v. +	f. v.	v.
$\frac{1}{320}$	k.	k.	k.	k.	st. Sp.	u. v.?	f. v.	v.	v.	u. v. +	f. v.	v.
$\frac{1}{640}$	k.	k.	k.	k.	st. Sp.	st. Sp.	f. v.	v.	v.	u. v. +	f. v.	v.
$\frac{1}{1280}$	k.	k.	k.	k.	Sp. +	st. Sp.	f. v.	v.	v.	u. v. +	f. v.	v.
$\frac{1}{2560}$	k.	k.	k.	k.	Sp. +	Sp. +	f. v.	v.	v.	u. v. +	f. v.	v.
$\frac{1}{5120}$	k.	k.	k.	k.	Sp.	Sp. +	f. v.	v.	v.	u. v. +	f. v.	v.
$\frac{1}{10240}$	k.	k.	k.	k.	Sp.	Sp.	f. v.	v.	v.	u. v. +	f. v.	f. v.
$\frac{1}{20480}$	k.	k.	k.	k.	k.	Sp.	f. v.	v.	v.	u. v. +	f. v.	f. v.
$\frac{1}{40960}$	k.	k.	k.	k.	k.	Sp.	f. v.	v.	v.	u. v. +	f. v.	f. v.
$\frac{1}{81920}$	k.	k.	k.	k.	k.	Sp.	st. Fl.	f. v.	v.	Fl.	u. v. +	u. v. +
C	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.

Tabelle XCI. (Prot. No. 275. 7. Juni 1905.)

Ser. v. Pf. No. 37 wie oben. Agaraufrschw. auf 100° C erhitzt, sonst wie in Tab. XC.

Ser.-Verd.	Agaraufrschw. 1 Std. auf 100° C erh.				Aufschw. + Formol 1 Std. auf 100° C erh.			
	$\frac{1}{40}$ Vol.	$\frac{2}{40}$ Vol.	$\frac{3}{40}$ Vol.	$\frac{4}{40}$ Vol.	$\frac{1}{40}$ Vol.	$\frac{2}{40}$ Vol.	$\frac{3}{40}$ Vol.	$\frac{4}{40}$ Vol.
$\frac{1}{2}$	f. v.	v.	v.	v.	f. v.	v.	v.	v.
$\frac{1}{5}$	f. v.	v.	v.	v.	f. v.	v.	v.	v.
$\frac{1}{10}$	f. v.	v.	f. v.	v.	f. v.	v.	f. v.	v.
$\frac{1}{20}$	f. v.	v.	u. v. +	f. v.	f. v.	v.	u. v. +	f. v.
$\frac{1}{40}$	st. Fl.	v.	u. v. +	f. v.	Fl.	v.	u. v. +	u. v. +
$\frac{1}{80}$	Fl.?	v.	u. v. +	f. v.	Fl.?	v.	u. v. +	u. v. +
$\frac{1}{160}$	k.	u. v. +	u. v. +	f. v.	k.	u. v.	st. Fl.	u. v. +
$\frac{1}{320}$	k.	u. v.?	u. v. +	f. v.	k.	st. Sp.	Fl.?	u. v.
$\frac{1}{640}$	k.	st. Sp.	u. v.	f. v.	k.	Sp.?	k.	st. Sp.
$\frac{1}{1280}$	k.	st. Sp.	k.	u. v.	k.	k.	k.	Sp. +
$\frac{1}{2560}$	k.	Sp.	k.	st. Sp.	k.	k.	k.	Sp.
$\frac{1}{5120}$	k.	Sp.?	k.	Sp.	k.	k.	k.	k.
$\frac{1}{10240}$	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
$\frac{1}{20480}$	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
$\frac{1}{40960}$	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
$\frac{1}{81920}$	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
C	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.

Tabelle XCII. (Prot. No. 261. 28. Mai 1905.)

Ser. wie oben + Agaraufrschw. B. typhi Z. 1 Std. auf 60° C erh.,  $\frac{1}{40}$  resp.  $\frac{16}{40}$  Vol. Resultat n. 1 Std. (Z. T.), 3 Std. (Z. T.) u. 24 Std. (Z. T.). 48–72° C.

Ser.-Verd.	Aufschw. $\frac{1}{40}$ Vol.					Aufschw. $\frac{16}{40}$ Vol.				
	$\frac{1}{40}$	$\frac{2}{40}$	$\frac{3}{40}$	$\frac{4}{40}$	$\frac{5}{40}$	$\frac{16}{40}$	$\frac{24}{40}$	$\frac{32}{40}$	$\frac{40}{40}$	$\frac{48}{40}$
$\frac{1}{2}$	k.	f. Fl.	v.	v.	v.	u. v.	u. v.	u. v.	u. v. +	u. v. +
$\frac{1}{5}$	k.	Sp.	v.	v.	v.	u. v. +	u. v. +	u. v. +	u. v. +	u. v. +
$\frac{1}{10}$	k.	Fl.	v.	v.	v.	u. v.	u. v.	u. v. +	u. v. +	u. v. +
$\frac{1}{20}$	k.	f. Fl.?	Sp.	f. v.	v.	u. v.	u. v.	u. v. +	u. v. +	u. v. +
$\frac{1}{40}$	k.	k.	k.	u. v.	u. v.	u. v.	u. v.	u. v. +	u. v. +	u. v. +
$\frac{1}{80}$	k.	k.	k.	Sp.	st. Sp.	u. v.	u. v.	u. v. +	u. v. +	u. v. +
$\frac{1}{160}$	k.	k.	k.	Sp.	Sp.	u. v.	u. v.	u. v. +	u. v. +	u. v. +
$\frac{1}{320}$	k.	k.	k.	Sp.	Sp.	u. v.	u. v.	u. v. +	u. v. +	u. v. +
$\frac{1}{640}$	k.	k.	k.	st. Sp.	u. v.	u. v.	u. v.	u. v. +	u. v. +	u. v. +
$\frac{1}{1280}$	k.	k.	k.	u. v.	f. v.	u. v.	u. v.	u. v. +	u. v. +	u. v. +
$\frac{1}{2560}$	k.	k.	k.	u. v.	f. v.	st. Fl.	u. v.	u. v.	u. v. +	u. v. +
$\frac{1}{5120}$	k.	k.	k.	f. v.	v.	Fl.	u. v.	u. v.	u. v. +	u. v. +
$\frac{1}{10240}$	k.	k.	k.	st. Sp.	st. Sp.	u. v.	u. v.	u. v.	u. v. +	u. v. +
$\frac{1}{20480}$	k.	k.	k.	st. Sp.	st. Sp.	k.	k.	st. Sp.	u. v.	u. v.
$\frac{1}{40960}$	k.	k.	k.	Sp.	Sp.	k.	k.	k.	st. Sp.	st. Sp.
C	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.

Tabelle XCIII. (Prot. No. 267. 31. Mai 1905.)

Ruhrserum v. Pf. No. 2 1904. B. dysenteriae St. Nepustil. Agaraufrschw. 1 Std. auf 100° C erh.,  $\frac{1}{40}$  resp.  $\frac{8}{40}$  Gesamtvolumen. Resultat n. 2 Std. u. 24 Std.

Ser.-Verd.	Erh. Aufschw. $\frac{1}{40}$ Vol.	Erh. Aufschw. $\frac{8}{40}$ Vol.
$\frac{1}{2}$	u. v.	v.
$\frac{1}{5}$	k.	f. v.
$\frac{1}{10}$	k.	u. v. +
$\frac{1}{20}$	k.	f. v.
$\frac{1}{40}$	k.	v.
$\frac{1}{80}$	k.	st. Sp.
$\frac{1}{160}$	k.	st. Sp.
$\frac{1}{320}$	k.	st. Sp.
$\frac{1}{640}$	k.	st. Sp.
$\frac{1}{1280}$	k.	Sp.
$\frac{1}{2560}$	k.	Sp.
$\frac{1}{5120}$	k.	st. Sp.
C	k.	st. Sp.

Tabelle XCIV. (Prot. No. 268. 1. Juni 1905.)

Cholerae. v. Pf. No. 44. 8. Mai 1905 (Ag.-W. = 2500 Ag.-E.). V. cholerae St. Elizabethpol. Agarauflschw. 1 Std. auf 75–80° C erh. Dieselbe mit 2,5 Proz. Formol 1 Std. auf 75–80° C erh. Resultat n. 4 Std., 8 Std. u. 24 Std. (Z. T.).

Ser.-Verd.	Aufschw. 1 Std. auf 75–80° C erh.						Aufschw. + Formol 1 Std. auf 75–80° C erh.					
	<sup>1</sup> / <sub>40</sub> Vol.			<sup>8</sup> / <sub>40</sub> Vol.			<sup>1</sup> / <sub>40</sub> Vol.			<sup>8</sup> / <sub>40</sub> Vol.		
<sup>1</sup> / <sub>2</sub>	k.	st. Sp.	f. v.	u. v. +	u. v. +	f. v.	Fl.?	st. Sp.	f. v.	u. v. +	f. v.	f. v.
<sup>1</sup> / <sub>5</sub>	k.	Sp.?	f. v.	u. v. +	u. v. +	f. v.	k.	Sp.	f. v.	f. v.	f. v.	f. v.
<sup>1</sup> / <sub>10</sub>	k.	Sp.?	Sp.?	f. v.	f. v.	v.	k.	Sp.	u. v. +	v.	v.	v.
<sup>1</sup> / <sub>20</sub>	k.	Sp.?	Sp. +	f. v.	f. v.	v.	f. Fl.?	u. v. +	f. v.	v.	v.	v.
<sup>1</sup> / <sub>40</sub>	k.	k.	Sp.	f. v.	f. v.	f. v.	st. Sp.	f. v.	f. v.	v.	v.	v.
<sup>1</sup> / <sub>80</sub>	k.	k.	Sp.	f. v.	f. v.	f. v.	Fl.	f. v.	v.	f. v.	v.	v.
<sup>1</sup> / <sub>160</sub>	k.	k.	Sp.	u. v. +	f. v.	f. v.	Fl.	v.	v.	f. v.	f. v.	v.
<sup>1</sup> / <sub>320</sub>	k.	k.	Sp.	st. Sp.	u. v.	u. v. +	Fl.	f. v.	v.	u. v. +	f. v.	f. v.
<sup>1</sup> / <sub>640</sub>	k.	k.	Sp.	Fl.?	st. Sp.	u. v.	f. Fl.	u. v. +	v.	Sp.	u. v.	u. v. +
<sup>1</sup> / <sub>1280</sub>	k.	k.	k.	k.	k.	st. Sp.	f. Fl.	Sp.	f. v.	k.	st. Sp.	st. Sp.
<sup>1</sup> / <sub>2560</sub>	k.	k.	k.	k.	k.	Sp.	k.	k.	Sp.?	k.	k.	Sp.
<sup>1</sup> / <sub>5120</sub>	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.
C	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.

Tabelle XCV. (Prot. No. 253.) 23. Mai 1905.)

Ser. wie oben. Agarauflschw. 1 Std. 75° C erh. <sup>1</sup>/<sub>40</sub> resp. <sup>4</sup>/<sub>40</sub> resp. <sup>16</sup>/<sub>40</sub> Gesamtvolumen. Resultat n. 30 Min., <sup>1</sup>/<sub>2</sub> Std. u. 24 Std.

Ser.-Verd.	Erh. Aufschw. <sup>1</sup> / <sub>40</sub> Vol.			Erh. Aufschw. <sup>4</sup> / <sub>40</sub> Vol.			Erh. Aufschw. <sup>16</sup> / <sub>40</sub> Vol.		
<sup>1</sup> / <sub>2</sub>	k.	k.	Sp.?	st. Sp.	u. v.	u. v. +	u. v.	f. v.	f. v.
<sup>1</sup> / <sub>5</sub>	k.	k.	k.	st. Sp.	u. v.	u. v. +	f. v.	f. v.	f. v.
<sup>1</sup> / <sub>10</sub>	k.	k.	k.	u. v.	u. v.	u. v. +	u. v.	u. v. +	u. v. +
<sup>1</sup> / <sub>20</sub>	k.	k.	k.	u. v.	u. v. +	u. v. +	u. v.	u. v. +	u. v. +
<sup>1</sup> / <sub>40</sub>	k.	k.	k.	Sp.	u. v. +	u. v. +	u. v.	u. v.	u. v. +
C	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.	k.

Tabelle XCVI. (Prot. No. 277. 8. Juni 1905.)

Ser. wie oben. Agarauflschw. 1 Std. auf 100° C erh. (bräunlich, durchscheinend). Dieselbe + 2,5 Proz. Formol 1 Std. auf 100° C erh. (weiß, undurchsichtig). Resultat n. 1 Std. (50°), 3 Std. (50°) u. 24 Std. (Z. T.).

Ser.-Verd.	Aufschw. 1 Std. auf 100° C erh.			Aufschw. + Formol 1 Std. auf 100° C erh.		
<sup>1</sup> / <sub>2</sub>	Sp.	u. v.	f. v.	Sp.	u. v.?	u. v.
<sup>1</sup> / <sub>5</sub>	Sp.	u. v.?	f. v.	f. Fl.	Sp.	st. Sp.
<sup>1</sup> / <sub>10</sub>	Sp.?	Sp. +	f. v.	u. v.	u. v. +	f. v.
<sup>1</sup> / <sub>20</sub>	k.	st. Sp.	v.	u. v. +	f. v.	v.
<sup>1</sup> / <sub>40</sub>	Sp.	f. v.	v.	f. v.	f. v.	v.
<sup>1</sup> / <sub>80</sub>	Sp.	f. v.	v.	u. v. +	f. v.	v.
<sup>1</sup> / <sub>160</sub>	Sp.	f. v.	v.	Fl.	f. v.	f. v.
<sup>1</sup> / <sub>320</sub>	st. Sp.	f. v.	v.	f. Fl.	st. Sp.	u. v.
<sup>1</sup> / <sub>640</sub>	Sp.	f. v.	f. v.	k.	Sp.	st. Sp.
<sup>1</sup> / <sub>1280</sub>	k.	Sp.	st. Sp.	k.	f. Fl.?	Sp.
<sup>1</sup> / <sub>2560</sub>	k.	f. Fl.	Sp.	k.	k.	k.
C	k.	k.	k.	k.	k.	k.

eine Schutzwirkung zu Tage treten, bei 100° C ist die Formolaufschwemmung etwas empfindlicher. Zu ähnlichen, wenn auch nicht ganz identischen Resultaten bezüglich der Typhusbakterien sind auf Grund ihrer Versuche Buxton und Vaughan gelangt.

Tabelle XCVII. (Prot. No. 269. 1. Juni 1905.)

Ser. v. Pf. No. 37. 15. Juni 1904 mit 0,5 Proz. Karbolzusatz. Agaraufschw. v.  
 B. typhi Z. mit 2,5 Formolzusatz  $\frac{9}{100}$  1 Std. auf 75–80° C erh. Resultat n. 4 Std.  
 u. 24 Std. (Z. T.)

Ser.-Verd.	Aufschw. $\frac{1}{40}$ Vol.	Aufschw. $\frac{8}{40}$ Vol.	Aufschw. $\frac{8}{40}$ Vol.	Aufschw. $\frac{8}{40}$ Vol.
1/2	v.	v.	u. v. +	u. v. +
1/5	v.	v.	u. v. +	u. v. +
1/10	f. v.	v.	u. v. +	u. v. +
1/20	f. v.	v.	u. v. +	f. v.
1/40	f. v.	v.	f. v.	v.
1/80	f. v.	v.	f. v.	v.
1/160	v.	v.	f. v.	v.
1/320	v.	v.	f. v.	v.
1/640	v.	v.	f. v.	v.
1/1280	f. v.	v.	f. v.	v.
1/2560	f. v.	v.	f. v.	f. v.
1/5120	f. v.	v.	f. v.	f. v.
1/10240	f. v.	v.	f. v.	f. v.
1/20480	u. v. +	v.	u. v. +	u. v. +
1/40960	u. v. +	v.	u. v. +	u. v. +
1/81920	Fl.	f. v.	u. v. +	u. v. +
C	k.	k.	k.	k.

Die Deutung der Gesamtheit der Tatsachen, die gegenwärtig bezüglich des Einflusses der Hitze auf die agglutinierbare Substanz der Bakterien bekannt geworden sind, dürfte kein leichtes Unternehmen sein. Die oben angeführte, von Eisenberg und Volk vorgebrachte Auffassung hat der Tatsache entsprochen, daß Agglutinierbarkeit und Bindungsfähigkeit an den Bakterien unter gewissen Umständen dissoziiert werden können. Angesichts der neu gefundenen Tatsachen wird sie natürlich modifiziert und ergänzt werden müssen. Vorläufig erscheint mir das von Buxton und Vaughan, Dreyer und Jex-Blake, Porges sowie von mir gesammelte Tatsachenmaterial zu heterogen, als daß man es momentan im Rahmen einer einheitlichen Deutung zusammenfassen könnte. Bezüglich der von Porges aufgestellten Theorie möchte ich bemerken, daß sie die Annahme zweier Gruppen durchaus nicht ausschließt, da doch die Tatsache bestehen bleibt, daß bei mittleren Temperaturgraden die zwei Funktionen dissoziiert werden, wenn auch bei höheren Temperaturen die Agglutinierbarkeit teilweise wiederhergestellt wird. Die Tatsache, daß eine größere Bakterienmenge die Hemmung aufhebt, wird weder von der Porgesschen Theorie noch von der durch Buxton und Vaughan sowie Dreyer und Jex-Blake aufgestellten Theorie „der Abspaltung freier Rezeptoren“ genügend erklärt (mit der übrigens viele oben angeführten Tatsachen sich in Einklang bringen ließen). Ebensowenig könnte man diese Theorien auf die Beobachtungen anwenden, die ich bei der Inaktivierung der präzipitablen Substanz in meiner Präzipitinarbeit mitgeteilt habe (keine Herstellung der Präzipitierbarkeit, keine freien Rezeptoren).

#### IV. Ueber den Einfluß der Temperatur auf den Agglutinationsvorgang.

Während frühere Autoren übereinstimmend die Temperatur von 37° C als die für die Agglutinations- und Präzipitationsreaktion günstigste betrachteten, habe ich in meiner Arbeit „Ueber die Verwandtschaft verschiedener Dysenteriestämme“ erwähnt, daß ich höhere Temperaturgrade

(ich gebrauchte damals einen auf  $42^{\circ}$  C eingestellten Thermostaten) für entsprechender halte wegen der Beschleunigung der Reaktion und der Hemmung des Bakterienwachstums. Sodann hat v. Horn gezeigt, daß die Temperatur von  $45^{\circ}$  C für den Präzipitationsvorgang, Weil, daß die Temperatur von  $50^{\circ}$ – $55^{\circ}$  C für den Agglutinationsvorgang das Optimum darstellt. Wie schon in der Einleitung erwähnt, konnte ich die Beobachtungen von Weil vollkommen bestätigen nicht nur bei Typhus, Cholera und Staphylokokken, sondern auch bei der ganzen Reihe schon erwähnter Species.

Da in der Frage der Einwirkung der Temperatur auf den Agglutinationsvorgang manche Momente nicht genügende Berücksichtigung gefunden haben, möchte ich dieser Angelegenheit einige Bemerkungen widmen. Die zweifellos wichtigste Errungenschaft betreffs des Mechanismus der Agglutination ist die Tatsache, daß dabei die Bindung des Agglutinins von dem Ausfallen des Niederschlags ganz unabhängig ist (Bordet, Joos, Eisenberg und Volk). Es müßte also auch die uns beschäftigende Frage von diesem Standpunkt behandelt werden, daß nämlich der Einfluß der Temperatur auf die Bindung sowie derjenige auf das Entstehen des Niederschlags jeder für sich besonders betrachtet werden soll. Eine solche Trennung ist um so mehr zu befürworten, als manche Tatsachen darauf hinweisen, daß der Einfluß auf diese beiden Akte verschieden, zum Teil sogar entgegengesetzter Natur ist. Eisenberg und Volk haben gefunden, daß die Bindung des Agglutinins an die Bakterien selbst bei  $0^{\circ}$  C in kürzester Zeit erfolgt, woraus bereits zu schließen ist, daß der beschleunigende Einfluß erhöhter Temperatur nur den zweiten physikalisch-chemischen Akt betreffen kann. Sodann sind Landsteiner sowie Landsteiner und Jagič auf Grund theoretischer Deduktionen sowie zahlreicher Versuche zu der Ueberzeugung gelangt, daß die Verbindung des Agglutinins mit der agglutinierten Substanz ein exothermischer Vorgang ist und daß die Menge der Verbindung (bei gleichbleibender aktiver Masse der Komponenten) desto größer ist, bei je niedriger Temperatur die Bindung vor sich geht. Bei Erhöhung der Temperatur geht die Bindung immer mehr zurück, indem die Dissoziation überwiegt. Andererseits aber beschleunigt höhere Temperatur zweifellos das Ausfallen des Niederschlags. So haben wir es also immer mit einem doppelten Einfluß der Temperatur zu tun, bei niedrigerer Temperatur große Bindungstendenz, gehemmtes Ausfallen, bei höherer geringere Bindung, beschleunigtes Ausfallen. Die bei verschiedenen Graden erfolgende Reaktion ist zeitlich wie quantitativ die Resultante dieser beiden Faktoren. Es ist möglich, daß auf Grund dieser Anschauung das Phänomen von Asakawa sich erklären läßt, das ich gemeinsam mit Herrn Dr. K. Habicht bestätigt fand, daß nämlich in eingefrorenen Agglutinationsproben beim Auftauen Agglutination eintritt. Im Sinne der soeben auseinandergesetzten Betrachtungsweise überwiegt unter diesen Umständen die quantitative Steigerung der Bindung derart, daß trotz Erschwerung der zweiten Phase die Reaktion eintritt. Es muß jedoch bemerkt werden, daß die Unstetigkeit des Auftretens der Agglutination speziell bei Verwendung kleiner Agglutininmengen die allgemeine Einführung dieser Methode nicht empfehlenswert erscheint. Beim Steigen der Temperatur haben wir dann eine Beschleunigung der sichtbaren Reaktion, es ist aber falsch, von einer Steigerung der Reaktionsgeschwindigkeit zu sprechen, wie es v. Horn tut, da es sich nur um den beschleunigenden Einfluß der Temperatur

auf die physikalisch-chemische Phase handelt. Bei Temperaturen über  $55^{\circ}\text{C}$  hinaus begegnen wir wieder Veränderungen, die dem Auftreten des Niederschlags entgegenwirken und die wir mit dem Namen der Desagglutination bezeichnen. Man kann jedoch nachweisen, daß in Fällen, wo diese Veränderungen nicht eintreten, auch höhere Temperaturen als  $55^{\circ}\text{C}$  den physikalisch-chemischen Vorgang des Ausfallens von Niederschlägen noch weiter beschleunigen. Das betrifft sowohl die Fällung von Eiweiß durch Pikrinsäure, als auch die Repräzipitation von Eiweiß-Vesuvium-Niederschlägen, als auch die Agglutination von Typhusbakterien durch Gelatine. Bei dieser letzteren bewirkt die Temperatur von  $100^{\circ}\text{C}$  eine auffallende Beschleunigung der Ausflockung (schon nach 2—5 Minuten) im Vergleich mit der von Weil empfohlenen Temperatur von  $55^{\circ}\text{C}$ .

Tabelle XCVIII. (Prot. No. 293. 18. Juni 1905.)

A = Ascitesflüss. Verd.  $\frac{1}{40}$  in physiol. NaCl mit 0,5 Proz. Karbolzusatz. P = ges. wässer. Pikrinsäurelösung. NaCl = physiol. NaCl-Lösung. Je 8 Röhrchen folgender Zusammensetzung werden bei Zimmertemp. resp. auf dem Wasserbad bei  $100^{\circ}\text{C}$  gehalten (ges. Vol. d. Röhrchens = 4 ccm).

I. A 1,0	NaCl 1,0	P 2,0	V. A 2,0	Aq. d. 1,2	P 0,8
II. „ 0,4	„ 1,6	„ 2,0	„ 2,0	„ „ 1,6	„ 0,4
III. „ 0,2	„ 1,8	„ 2,0	„ 2,0	„ „ 1,8	„ 0,2
IV. „ 0,1	„ 1,9	„ 2,0	„ 2,0	„ „ 1,9	„ 0,1

Röhr- chen	Bei Zimmertemperatur						Auf dem Wasserbad bei $100^{\circ}\text{C}$					
	Resultat nach						Resultat nach					
	5 Min.	15 Min.	30 Min.	1 Std.	6 Std.	24 Std.	5 Min.	15 Min.	30 Min.	1 Std.	6 Std.	24 Std.
I. f. Fl.	Fl. +	st. Fl.	st. Fl. N.	v.	v.	st. Fl.	v.	v.	v.	v.	v.	v.
II. Op.	Op.	f. Fl.	Fl.	v.	v.	f. Fl.	st. Fl.	v.	v.	v.	v.	v.
III. Sp.Op.	Sp. Op.	schw. Op.	Op.	st. Fl.	v.	Op.	Fl.	v.	v.	v.	v.	v.
IV. k.	Sp. Op.	Sp. Op.	Sp. Op.	Fl.	v.	Sp. Op.	f. Fl.	st. Fl.	st. Fl.	v.	v.	v.
V. Fl.	st. Fl.	st. Fl.	st. Fl.	v.	v.	st. Fl.	st. Fl. N.	v.	v.	v.	v.	v.
VI. Op.	st. Op.	st. Op.	st. Fl.	v.	v.	st. Fl.	st. Fl. N.	v.	v.	v.	v.	v.
VII. Sp.Op.	Sp. Op.	Sp. Op.	Op.	f. Fl.	v.	st. Op.	st. Fl. N.	Fl. N.	Fl. N.	u. v.	u. v.	u. v.
III. Sp.Op.	Sp. Op.	Sp. Op.	Sp. Op.	Op.	Op.	st. Op.	st. Op.	st. Op.	st. Op.	st. Op.	st. Op.	st. Op. N.

Erkl. d. Zeichen: Op. = Opaleszenz. st. Op. = starke Op., N = Niederschlag.

Tabelle XCIX. (Prot. No. 295. 24. Juni 1905.)

2 ccm Ascitesflüss. + 4 ccm wässer. Vesuvium 2,5 Prom. Der Niederschlag abzentri-  
fugiert, nach Wegnahme der oberen Flüssigkeit in der gleichen Menge physiol. NaCl  
suspendiert und auf eine Reihe von Röhrchen verteilt, die zum Teil bei Zimmertemp.,  
zum Teil bei  $65^{\circ}\text{C}$  resp.  $100^{\circ}\text{C}$  auf dem Wasserbad gehalten werden.

Bei Zimmertemper.			Bei $100^{\circ}$		
nach 5 Min.	st. Fl.	Sp. Nied.	nach 5 Min.	Nied., fast ganz abgesetzt, spärli.	
„ 15 „	„	„ Nied.		Flocken suspendiert	
			nach 15 Min.	dto.	
Bei Zimmertemper.			Bei $65^{\circ}$		
nach 1 Min.	unverändert		nach 1 Min.	deutl. Fl.	
„ 5 „	f. Fl.		„ 5 „	st. Fl., Nied.	
„ 15 „	st. Fl.		„ 15 „	Fl., st. Nied.	
„ 30 „	lockerer Nied. ( $\frac{1}{3}$ ges. Vol.)		„ 30 „	kompakter Nied. ( $\frac{1}{8}$ ges. Vol.)	

Außer dem Einfluß der Temperatur auf das Entstehen der Reaktion ist es für das Studium des Agglutinationsmechanismus wichtig, die Bedingungen des Zustandekommens der Desagglutination einer eingehenden Prüfung zu unterziehen. Eisenberg und Volk haben zuerst festgestellt, daß bei  $65-70^{\circ}\text{C}$  eine Desagglutination agglutinerter Typhusbakterien erfolgt. Sodann hat Weil durch umfangreiche und interes-



sante Untersuchungen die Frage gefördert; aus seinen Versuchen zieht er den Schluß, daß die Desagglutination für jede Bakterien-species insbesondere behandelt werden muß, daß sie vor allem auf die Einwirkung der Hitze auf die agglutinierbare Substanz oder das Agglutinin zurückgeführt werden muß, daß aber in manchen Fällen auch die Eigenschaften der fertigen Verbindung in Betracht kommen können. Bezüglich der Präzipitine wäre zu erwähnen, daß das Milchpräzipitat beim Erhitzen sich auflöst (Moro), daß dagegen die spezifischen Niederschläge von Hühnereiweiß und Pferdeserum beim Erhitzen koaguliert werden. In meinen neueren Versuchen über diesen Gegenstand trachtete ich zunächst die quantitativen Verhältnisse besser zu berücksichtigen, was ich in den Resultaten deutlich hervortretender Einfluß auch voll gerechtfertigt hat. Landsteiner und Jagić haben darauf hingewiesen, daß die Verbindungen der agglutinierbaren Substanz mit verschiedenen Mengen von Agglutinin bei der Hitzedissociation sich verschieden verhalten, indem die agglutininreicheren dabei auch mehr Agglutinin abgeben. Andererseits habe ich die Komponenten vor der Verbindung verschiedenen Einwirkungen unterworfen, um womöglich daraus betreffs ihrer Rolle bei der Desagglutination gewisse Schlüsse ziehen zu können. Die Desagglutination könnte nämlich eintreten entweder infolge Einwirkung der Hitze auf das Agglutinin oder die agglutinierbare Substanz (insofern man eine lockere Verbindung mit teilweiser Bewahrung ihrer Individualität seitens der Komponenten oder eine Adsorption des Agglutinins annimmt) oder infolge Hitzedissoziation der Verbindung und nachträglicher Einwirkung auf die Komponenten oder endlich infolge Einwirkung der Hitze auf die Verbindung als solche. Auf Grund des vorliegenden Versuchsmateriales (auch des im folgenden mitzuteilenden) läßt sich diese Frage noch nicht entscheiden, wengleich die eine oder andere Eventualität dadurch eingeschränkt wird. Zu meinen Versuchen habe ich außer gewöhnlichen Bakterien auch auf 80° resp. 100° C erhitzte resp. mit Formol behandelte und außer gewöhnlichem Serum auch auf 100° erhitztes (in Anwesenheit von konzentrierter  $MgCl_2$ -Lösung) zur Agglutination der Bakterien verwendet. Ähnlich wie Weil habe ich die Versuche mit verschiedenen Bakterienarten angestellt, um die Frage von möglichst verschiedenen Seiten zu erfassen. Sodann habe ich noch neben der Temperatur von 80°, die Weil ausschließlich benutzt hat, auch die von 100° C herangezogen, was auf die Resultate nicht ohne Einfluß war. Bezüglich der Technik der Versuche ist zu bemerken, daß Röhrchen, in denen durch verschiedene Agglutininmengen die Reaktion erfolgt war, auf dem Wasserbad bei 80° resp. 100° C gehalten wurden und nach 5, 15, 30 Minuten und 1 Stunde ihr Zustand kontrolliert wurde. Nach Ablauf einer Stunde wurden sie aus dem Wasserbad herausgenommen und bis 24 Stunden bei Zimmertemperatur gelassen, wobei unerhitzte Röhrchen derselben Zusammensetzung als Kontrollen dienten. Sofern ein größerer Serumgehalt in den Röhrchen eine Koagulation bei 100° verursachte, die eine Beurteilung des Resultates unmöglich machte, wurde in entsprechenden Röhrchen die klare obere Flüssigkeit abgehoben und mit physiologischer Kochsalzlösung das frühere Volumen ergänzt. (S. Tab. C.)

Aus dem in Tabelle C dargestellten Versuch folgt vor allem, daß die mit einer kleineren Agglutininmenge agglutinierten Bakterien leichter desagglutiniert werden, als die mit einer großen, was mit dem Verhalten dieser Verbindungen bei der Dissociation übereinstimmt (Landsteiner

Tabelle C. (Prot. No. 288. 14. Juni 1905.)

Agglutinierte Röhrchen bei 80° resp. 100° auf dem Wasserbad.  $S_0$  = Ser. v. Pf. No. 37 nicht erh. (Ag.W. = 80000 Ag.E.).  $S_{100}$  = 1 Ser. + 9 MgCl<sub>2</sub> ges. 1 Std. auf 100° erh. (auf Serumgehalt berechnet).  $T_0$  = Agarauflschw. v. B. typhi Z unerh.,  $T_{100}$  = 1 Std. auf 100° erh., Tf. = Aufschw. + 2,5 Proz. Formol.

Zeichenerklärung: — unverändert, Op. = Opaleszenz, st. Op. = starke Op., l. Op. = leichte Op., Tr. = Trübung d. oberen Flüss., wolk. Tr. = wolkige Trübung, die aus dem Bodensatz aufsteigt, N. = Niederschlag, Sed. = Sedimentierung der Bakterien, D. = Desagglutination, p. D. = partielle D., C = Kontrolle, komp. N. = kompakterer N. als in C., sp. N. = spärlicherer N. als in C., Tr. = Trübung. In den mit \* bezeichneten Röhrchen ist die obere Flüss. abgehoben und durch physiol. NaCl ersetzt.

## I. Desagglutination bei 80° C.

$S_0$	$T_0$	$T_{100}$
$1/_{10}$	5 Min. Op. —, 15 Min. st. Op. —, 30 Min. st. Op. —, 1 Std. st. Op. —, 24 Std. st. Op. —	5 Min. Op. —, 15 Min. st. Op. —, 30 Min. st. Op. —, 1 Std. st. Op. —, 24 Std. st. Op. —
$1/_{50}$	5 Min. —, 15 Min. Op. —, 30 Min. Op. —, 1 Std. Op. —, 24 Std. Op. — sp. N.	5 Min. —, 15 Min. Op. —, 30 Min. Op. —, 1 Std. Op. —, 24 Std. Op. — komp. N.
$1/_{100}$	5 Min. —, 15 Min. —, 30 Min. —, 1 Std. —, 24 Std. — sp. N.	—
$1/_{5120}$	5 Min. D., 15 Min. D., 30 Min. D., 1 Std. D., 24 Std. Sed.	—
$S_{100}$		
$1/_{640}$	5 Min. wolk. Tr. D., 15 Min. D., 30 Min. D., 1 Std. D., 24 Std. Tr. Sed.	—
$1/_{5120}$	5 Min. wolk. Tr. D., 15 Min. D., 30 Min. D., 1 Std. D., 24 Std. Sed.	—

## II. Desagglutination bei 100° C.

$S_0$	$T_0$	$T_{100}$	Tf
$1/_{10}^*$	5 Min. Op. —, 30 Min. Op. —, 1 Std. Op. —, 24 Std. Op. — l. Sed.	5 Min. Op. —, 30 Min. Op. —, 1 Std. Op. —, 24 Std. Op. — l. Sed.	—
$1/_{50}^*$	5 Min. —, 30 Min. l. Op. —, 1 Std. l. Op. —, 24 Std. l. Op. —	5 Min. —, 30 Min. —, 1 Std. —, 24 Std. l. Op. —	—
$1/_{640}^*$	5 Min. —, 30 Min. —, 1 Std. —, 24 Std. — sp. N.?	—	5 Min. — 30 Min. —, 1 Std. —, 24 Std. —
$1/_{5120}^*$	5 Min. D., 30 Min. D., 1 Std. D., 24 Std. D. l. Sed.	—	5 Min. Op. p. D., 30 Min., 1 Std., 24 Std. dto.
$1/_{40960}$	—	—	5 Min. wolk. Tr. p. D., 30 Min., 1 Std., 24 Std. dto.
$S_{100}$			
$1/_{640}^*$	5 Min. Op. —, 30 Min. Op. —, 1 Std. Op. —, 24 Std. Op. —	—	—
$1/_{5120}^*$	5 Min. D., 30 Min. D., 1 Std. D., 24 Std. D.	—	—

und Jagič). Bei  $1/_{50}$  (= 1000 Ag.E.) und  $1/_{640}$  (= 128 Ag.E.) finden wir kaum eine Spur von Desagglutination (?), eine prompte und vollständige Desagglutination erst bei  $1/_{5120}$  (= Ag.A.). Die mit 100°-Serum agglutinierten scheinen wenigstens bei 80° C leichter desagglutiniert zu

werden (trifft bei 100° nicht zu). Die auf 100° C erhitzten Bakterien werden nur von stärkeren Serumkonzentrationen agglutiniert, so daß hier kein Unterschied zu Tage treten kann. Die mit Formol versetzten Bakterien lassen sich schwieriger desagglutinieren als normale (partielle Desagglutination noch bei  $\frac{1}{40960}$ ). In den gewählten Versuchsgrenzen tritt hier kein Unterschied auf zwischen der Wirkung von 80° und 100° C. Interessant ist die Zusammenstellung dieser Resultate mit denen, die bei ähnlicher Versuchsanordnung Choleravibrionen geben (Tabelle CI).

Tabelle CI. (Prot. No. 289. 14. Juni 1905.)

Ser. v. Pf. No. 44. 8. Mai 1905 (Ag.W. = 2500 Ag.E.). — V. cholerae St. Elizawetpol. Agaraufschw. Cho = nicht erh., Ch<sub>80</sub> Ch<sub>100</sub> 1 Std. auf 80° resp. 100° erh. Chf = Aufschw. + 2,5 Proz. Formol, Chf<sub>80</sub>, Chf<sub>100</sub> wie oben.

## I. Desagglutination bei 80° C.

Aufschw.	S $\frac{1}{10}$	S $\frac{1}{100}$	S $\frac{1}{1000}$
Ch <sub>0</sub>	5 Min. Op. —, 30 Min. Op. —, 1 Std. st. Op. —, 24 Std. st. Op. —	5 Min. —, 30 Min. —, 1 Std. —, 24 Std. l. Op. —	5 Min. l. Tr. —, 30 Min. wolk. Tr., 1 Std. D., 24 Std. Sed.
Ch <sub>80</sub>	5 Min. —, 30 Min. —, 1 Std. st. Op. —, 24 Std. st. Op. — sp. N.?	—	—
Ch <sub>100</sub>	5 Min. —, 30 Min. Op. —, 1 Std. st. Op. —, 24 Std. st. Op. — komp. N.	5 Min. —, 30 Min. —, 1 Std. —, 24 Std. —	5 Min. —, 30 Min. —, 1 Std. —, 24 Std. —
Chf	5 Min. —, 30 Min. l. Op. —, 1 Std. l. Op. —, 24 Std. l. Op. — sp. N.?	5 Min. —, 30 Min. —, 1 Std. —, 24 Std. — komp. N.	5 Min. —, 30 Min. —, 1 Std. —, 24 Std. — komp. N.
Chf <sub>80</sub>	5 Min. —, 30 Min. l. Op. —, 1 Std. l. Op. —, 24 Std. — komp. N.	5 Min. —, 30 Min. —, 1 Std. —, 24 Std. — komp. N.	5 Min. —, 30 Min. —, 1 Std. —, 24 Std. — komp. N.
Chf <sub>100</sub>	5 Min. —, 30 Min. —, 1 Std. —, 24 Std. — komp. N.	5 Min. —, 30 Min. —, 1 Std. —, 24 Std. —	5 Min. —, 30 Min. —, 1 Std. —, 24 Std. —

## II. Desagglutination bei 100° C.

Aufschw.	S $\frac{1}{10}$	S $\frac{1}{100}$	S $\frac{1}{1000}$
Ch <sub>0</sub> *	5 Min. Op. —, 30 Min. Op. —, 1 Std. Op. —, 24 Std. Op. — komp. N.	5 Min. D., 30 Min. D., 1 Std. D., 24 Std. Sed.	5 Min. —, 30 Min. D., 1 Std. p. D., 24 Std. D.
Ch <sub>80</sub> *	5 Min. Op. —, 30 Min. Op. —, 1 Std. Op. —, 24 Std. Op. — komp. N.	—	—
Ch <sub>100</sub> *	5 Min. Op. —, 30 Min. Op. —, 1 Std. Op. —, 24 Std. Op. — komp. N.	5 Min. Op. —, 30 Min. Op. —, 1 Std. Op. —, 24 Std. Op. — sp. N.	5 Min. Op. —, 30 Min. Op. —, 1 Std. Op. — sp. N.
Chf <sub>0</sub>	5 Min. —, 30 Min. —, 1 Std. —, 24 Std. —	5 Min. —, 30 Min. —, 1 Std. —, 24 Std. — komp. N.	5 Min. Op. Tr., 30 Min. D., 1 Std. D., 24 Std. Sed.
Chf <sub>80</sub>	5 Min. —, 30 Min. —, 1 Std. —, 24 Std. —	5 Min. —, 30 Min. —, 1 Std. —, 24 Std. —	5 Min. Op. Tr., 30 Min. D., 1 Std. D., 24 Std. Sed.
Chf <sub>100</sub>	5 Min. —, 30 Min. —, 1 Std. —, 24 Std. — komp. N.	5 Min. —, 30 Min. —, 1 Std. —, 24 Std. —	5 Min. —, 30 Min. —, 1 Std. —, 24 Std. — komp. N.

In den mit \* bezeichneten Proben ist die ob. Flüss. abgehoben u. durch NaCl ersetzt.

Auch hier ist zunächst der Einfluß der zur Agglutination verwendeten Agglutininmenge zu konstatieren; die mit S  $\frac{1}{1000}$  agglutinierten Proben werden desagglutiniert, die mit S  $\frac{1}{100}$  und S  $\frac{1}{10}$  bleiben unver-

ändert (bei 80° C). Sodann macht sich der Einfluß der Temperatur bemerkbar, indem S  $\frac{1}{100}$  bei 80° unverändert bleibt, bei 100° desagglutiniert wird. Drittens zeigt sich, daß die Desagglutination ein langsam verlaufender Prozeß sein kann (S  $\frac{1}{1000}$  Ch<sub>0</sub> bei 80°) und nicht ausnahmsweise innerhalb 5 Minuten erfolgt, wie es wohl meistens geschieht. Wir sehen weiter, daß auf 100° C vorerhitzte Bakterien sich widerstandsfähiger zeigen als normale, was gegen die Annahme von Weil spricht, daß bei der Desagglutination der Choleravibrionen die Inaktivierung des Choleraagglutinins das entscheidende Moment sei. Ebenso erhöht ein Formolzusatz zur Kultur ihre Widerstandsfähigkeit gegen Hitzedesagglutination sowohl bei 80° wie bei 100° C. Der Einfluß des Temperaturgrades, der zur Agglutination verwendeten Serummenge und der Bakterienart ist auch aus folgenden Versuchen ersichtlich, die andere Bakterienarten betreffen (Tabellen CII und CIII):

Tabelle CII. (Prot. No. 290. 14. Juni 1905.)

*B. subtilis* St. Z., *B. pyocyaneum* St. Exs., *B. fluorescens putidum* St. Z mit entsprechenden spezifischen Kaninchenseris.

Desagglutination bei 80° C		Desagglutination bei 100° C	
B. subtilis Z.			
S $\frac{1}{10}$	5 Min. st. Op. —, 15 Min. st. Op. —, 30 Min. st. Op. —, 24 Std. st. Op. — sp. N.?	S $\frac{1}{20}$	5 Min. st. Op. —, 30 Min. st. Op. —, 1 Std. st. Op. —, 24 Std. st. Op. —
S $\frac{1}{160}$	5 Min. —, 15 Min. Op. —, 30 Min. Op. —, 24 St. Op. —	S $\frac{1}{820}$	5 Min. Op. —, 30 Min. Op. —, 1 Std. Op. —, 24 Std. Op. — sp. N.?
S $\frac{1}{1290}$	5 Min. —, 15 Min. —, 30 Min. —, 23 Std. — sp. N.?	S $\frac{1}{5120}$	5 Min. Op. —, 30 Min. Op. —, 1 Std. Op. —, 24 Std. Op. — sp. N.?
S $\frac{1}{10740}$	5 Min. —, 15 Min. —, 30 Min. —, 24 Std. — sp. N.?		
B. pyocyaneum Exs.			
S $\frac{1}{10}$	3 Min. wolk. Tr. —, 15 Min. wolk. Tr. —, 30 Min. wolk. Tr. —, 24 Std. p. D. Sed.	S $\frac{1}{20}$	5 Min. D., 30 Min. D., 1 Std. D., 24 Std. l. Sed.
S $\frac{1}{160}$	5 Min. wolk. Tr. —, 15 Min. wolk. Tr. —, 30 Min. wolk. Tr. —, 24 Std. p. D. Sed.	S $\frac{1}{320}$	5 Min. D., 30 Min. D., 1 Std. D., 24 Std. l. Sed.
S $\frac{1}{1290}$	5 Min. wolk. Tr. —, 15 Min. wolk. Tr. —, 30 Min. wolk. Tr. —, 24 Std. p. D. Sed.	S $\frac{1}{2560}$	5 Min. D., 30 Min. D., 1 Std. D., 24 Std. l. Sed.

*B. fluorescens putidum*

S $\frac{1}{10}$	5 Min. l. Op. —, 15 Min. Op. —, 30 Min. Op. —, 24 Std. Op. —	S $\frac{1}{20}$	5 Min. Op. p. D., 30 Min. Tr. p. D., 1 Std., 24 Std. p. D.
S $\frac{1}{160}$	5 Min. —, 15 Min. —, 30 Min. —, 24 Std. — komp. N.	S $\frac{1}{890}$	5 Min. D., 30 Min. D., 1 Std. D., 24 Std. D.
S $\frac{1}{1280}$	5 Min. —, 15 Min. —, 30 Min. —, 24 Std. Tr. p. D. Sed.	S $\frac{1}{3560}$	5 Min. D., 30 Min. D., 1 Std. D., 24 Std. D.

Tabelle CIII. (Prot. No. 290a. 16. Juni 1905.)

*B. subtilis* Z., *B. pyocyaneum* Exs., *B. fluorescens putidum*, *B. subtilis* PSII, mit den entsprechenden spezifischen Kaninchenseris, *B. erysipelatos suum* St. D. und spez. Pferdeserum „Szikre“ (beide von Herrn Doz. Dr. L. Detre-Deutsch in Budapest). Die ob. Flüss. in allen Röhren abgehoben und durch phys. NaCl ersetzt.

## Desagglutination bei 100° C

*B. subtilis* Z.

S $\frac{1}{2}$	5 Min. Op. —, 30 Min. Op. —, 1 Std. Op. —, 24 Std. Op. — komp. N.	S $\frac{1}{8}$	5 Min. Op. —, 30 Min. Op. —, 1 Std. Op. —, 24 Std. Op. — komp. N.
-----------------	---	-----------------	---

**B. pyocyaneum Exs.**

S $\frac{1}{2}$	5 Min. —, 30 Min. —, 1 Std. Tr. p. D., 24 Std. Tr. p. D. Sed.	S $\frac{1}{6}$	5 Min. wolk. Tr. p. D., 30 Min. wolk. Tr. p. D., 1 Std. D., 24 Std. D. Sed.
-----------------	--	-----------------	---

**B. fluorescens putidum Z.**

S $\frac{1}{2}$	5 Min. Op. —, 30 Min. Op. —, 1 Std. Op. —, 24 Std. Op. — sp. N.?	S $\frac{1}{6}$	5 Min. l. Op. —, 30 Min. l. Op. —, 1 Std. l. Op. —, 24 Std. l. Op. — l. Op. — sp. N.?
-----------------	--	-----------------	---

**B. erysipelatos suum D.**

S $\frac{1}{2}$	5 Min. Op. —, 30 Min. Op. —, 1 Std. Op. —, 24 Std. Op. —	S $\frac{1}{160}$	5 Min. —, 30 Min. —, 1 Std. —, 24 Std. komp. N.
S $\frac{1}{30}$	5 Min. —, 30 Min. —, 1 Std. —, 24 Std. — komp. N.	S $\frac{1}{1280}$	5 Min. —, 30 Min. —, 1 Std. —, 24 Std. komp. N.

**B. subtilis PSII**

S $\frac{1}{2}$	5 Min. Op. —, 30 Min. Op. —, 1 Std. Op. —, 24 Std. Op. — komp. N.	S $\frac{1}{1280}$	5 Min. l. Op. —, 30 Min. l. Op. —, 1 Std. l. Op. —, 24 Std. l. Op. — — komp. N.
S $\frac{1}{70}$	5 Min. Op. —, 30 Min. Op. —, 1 Std. Op. —, 24 Std. Op. — komp. N.	S $\frac{1}{10290}$	5 Min. l. Op. —, 30 Min. l. Op. —, 1 Std. l. Op. —, 24 Std. l. Op. — — komp. N.
S $\frac{1}{160}$	5 Min. Op. —, 30 Min. Op. —, 1 Std. Op. —, 24 Std. Op. — komp. N.		

Bezüglich dieser Versuche ist zu bemerken, daß die Beurteilung der Desagglutination, zumal wenn sie spät und unvollkommen auftritt, oft Schwierigkeiten bietet. Zuweilen tritt selbst in Proben, deren obere Flüssigkeit durch physiologisches Kochsalz ersetzt wurde, eine Opaleszenz auf, von der sich nicht entscheiden läßt, ob sie einer partiellen Desagglutination entspricht (?) oder einem Freiwerden gewisser Bestandteile der agglutinierten Bakterien. In den Fällen, wo keine Desagglutination eintritt, scheint oft das kompakte und undurchsichtige Aussehen des Niederschlages dafür zu sprechen, daß die Agglutinin-Bakterienverbindung koaguliert wird, ähnlich, wie ich es bezüglich der Eiweißpräzipitate festgestellt habe. Jedenfalls, wenn auch die Desagglutinationsfrage noch einer endgültigen Lösung harret und noch vielfältige Versuche erfordert, scheinen mir doch meine Beobachtungen dafür zu sprechen, daß man am besten tun wird, die Einwirkung der Hitze auf agglutinierte Bakterien vor allem als Einwirkung auf die schon bestehende Verbindung zu betrachten, wobei es natürlich keinem Zweifel unterliegt, daß der Charakter der Komponenten in jedem besonderen Falle die Eigenschaften der Verbindung zum Teil bestimmen kann.

15. November 1905.

**Literatur.**

- Asakawa, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLV. p. 93—96.  
 Bail, O., Arch. f. Hyg. Bd. XLII.  
 Battelli, F., Compt. rend. soc. de biol. T. LVIII. p. 47—49.  
 Bechhold, H., Zeitschr. f. physik. Chem. Bd. XLVIII.  
 Biltz, W., Nachr. a. d. kais. Ges. d. Wiss. Göttingen. M.-phys. Kl. 1904. Heft 1.  
 de Blasi, Ann. d'igiene. sper. 1905. Fasc. 1.  
 de Blasi e de Bernardinis, Ann. d'igiene sper. 1903. Fasc. 4.  
 Buxton, B. H., Journ. of med. res. Vol. XIII. No. 5.  
 Buxton, B. H. and Vaughan, V. C., Journ. of med. res. Vol. XII. No. 1.  
 Centanni, E., Rif. med. Vol. XVIII. Fasc. 3.  
 Cerrito, A., Ann. d'igiene sper. 1904. Fasc. 3.  
 Cole, R. J., Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLVI. p. 367—370.  
 Craw, J. A., Journ. of hyg. Vol. V. No. 1. p. 113—128.

- Dieudonné, A., Hyg. Rundschau. 1902. No. 18.  
 Dreyer, G., Brit. med. Journ. 1904. Sept. 10.  
 Breyer, G. und Jex-Blake, A. J., Mém. de l'acad. r. des sc. et des l. de Danemark. Sér. 7. Sect. des sc. T. I. No. 4.  
 v. Dungern, E., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. p. 355—380.  
 Eisenberg, Ph., Bull. de l'acad. des sc. Crac. 1902. Mai; 1903. Mai, Juillet. — Przegląd lekarski. 1903. — Wiener klin. Wochenschr. 1904. No. 43.  
 Eisenberg, Ph. und Volk, R., Zeitschr. f. Hyg. Bd. XL.  
 Falta, W. und Noeggerath, H., Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. LXXXIII. p. 150—183.  
 Fischer, H., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVII. p. 600—613.  
 Fleischmann, P., Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 15. p. 693—694.  
 Ford, W. W., Zeitschr. f. Hyg. Bd. XL. p. 363—372.  
 Friedemann, U., Zeitschr. f. kl. Med. Bd. LV.  
 v. Horn, C., Inaug.-Diss. Würzburg, 1903.  
 Jogichess, M., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. p. 692—693.  
 Joos, A., Zeitschr. f. Hyg. Bd. XL. p. 203—230. — Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIII. p. 762—783.  
 Kirstein, F., Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLVI. p. 229—260.  
 Korte, W., Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLIV. p. 245—272.  
 Kraus, R., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. p. 493—495.  
 Kraus, R. und v. Pirquet, Cl., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXII. p. 60—74.  
 Landsteiner, K., Münch. med. Wochenschr. 1902. No. 46. p. 1905—1908; 1903. No. 42. p. 1812—1814.  
 Landsteiner, K. und Jagič, Münch. med. Wochenschr. 1903. No. 18. p. 764—768; 1904. No. 27. — Wiener klin. Wochenschr. 1904. No. 3.  
 Landsteiner, K. und Reich, M., Wiener klin. Rundsch. 1905. No. 32. p. 568—569. Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX. p. 309—319.  
 Libman, Med. News. 1904. Zit. bei Falda und Noeggerath.  
 Lipschütz, B., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. p. 798—811.  
 Lipstein, A., Deutsche med. Wochenschr. 1902. p. 821—822.  
 Michaëlis, L., Ueber die Bindungsgesetze zwischen Toxin und Antitoxin. Berlin 1905. Zeitschr. f. klin. Med. Bd. LVI. Heft 5/6. p. 409—431.  
 Mohl, Hofmeisters Beitr. z. chem. Phys. u. Path. Bd. IV.  
 Moser, P. und v. Pirquet, Cl., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV.  
 Neisser, M., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. p. 671—676.  
 Neisser, M. und Friedemann, U., Münch. med. Wochenschr. 1904. No. 11, 19.  
 Nicolle, Ch., Ann. de l'Inst. Past. T. XVIII. No. 4. p. 209—240.  
 Nicolle, Ch. et Trénel, M., Ann. de l'Inst. Past. T. XVI. No. 8. p. 562—586.  
 Paltauf, R., Deutsche med. Wochenschr. 1903. No. 50. p. 946—950. — Art. „Agglutination in Kollo-Wassermanns Handb. Bd. IV B.“  
 Pfeiffer, H., Wiener klin. Wochenschr. 1905. No. 13.  
 Pick, E. P., Hofmeisters Beitr. z. chem. Phys. u. Path. Bd. I. p. 350—471.  
 Porges, O., Zeitschr. f. exper. Path. u. Ther. Bd. I. Heft 3. p. 621—639.  
 Posselt, A. und v. Sagasser, R., Wiener klin. Wochenschr. 1903. No. 24.  
 Rodet, A., Compt. rend. soc. de biol. T. LV. No. 37. p. 1628—1630. — Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVII. p. 714—716.  
 Sahli, Lehrb. d. klin. Untersuchungsmech. 3. Aufl. 1905. p. 722.  
 Scheller, R., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVI. p. 427—441, 694—718; Bd. XXXVIII. p. 100—118.  
 Schottelius, Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 44. p. 2116—2169.  
 Schwarz, O., Hofmeisters Beitr. z. chem. Phys. u. Path. Bd. VI. p. 524—542.  
 Schwoner, J., Wiener klin. Wochenschr. 1902. No. 48.  
 Sehrwald, Deutsche med. Wochenschr. 1905. No. 7. p. 261—263.  
 Shiga, K., Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLI. p. 355—368.  
 Torrey, J. J., Journ. of exp. med. Vol. VII. No. 4.  
 Volk, R. und Lipschütz, B., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVI.  
 Volk, R. und de Waele, H., Wiener klin. Wochenschr. 1903.  
 Walker, E. W. A. und Murray, W., Brit. med. Journ. 1904. July 2.  
 Wassermann, A., Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLII. p. 267—292.  
 Weil, E., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVI. p. 677—684; Bd. XXXVII. p. 98—117, 426—433.

*Nachdruck verboten.*

## Ueber Streptokokkenvaccine und deren Verwendung bei der Druse der Pferde und dem Scharlach des Menschen.

Von **G. Gabritschewsky,**

Direktor des bakteriologischen Instituts a. d. kaiserl. Universität zu Moskau.

Mit 1 Kurve.

(Schluß.)

Zur Entscheidung der Frage, welche Anwendungs- und Wirkungsweise der Vaccins die beste sei, benutzte ich 26 Pferde, meist einjährige, da ja dieses Alter am meisten empfänglich ist. Heutzutage sind bereits einige Hundert Pferde sowohl in staatlichen als auch in privaten Stute-reien der Schutzimpfung unterzogen worden, und sind wir bereits in der Lage, uns über die Art und Weise, wie der Pferdeorganismus auf diese Vaccine reagiert, uns auslassen zu können. In betreff der Dauer dieser auf solche Weise erhaltenen Immunität wird erst in Zukunft sich etwas Bestimmtes sagen lassen können. Das diesbezügliche Material muß erst gesammelt und wird alsdann in der Fachpresse publiziert werden.

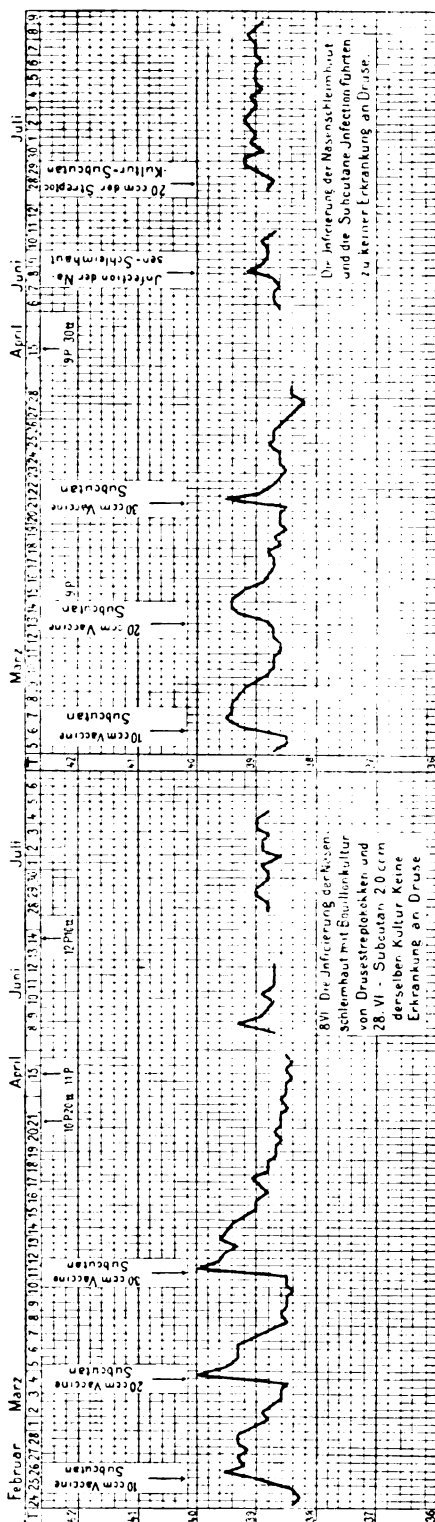
In Abhängigkeit von der Virulenz der Kulturen, vom Alter der Pferde, ihrer individuellen Empfänglichkeit u. s. w. muß das Vaccine-quantum, das zum Erzielen einer mittleren, nicht sehr stürmischen, Reaktion erforderlich ist, verschieden sein. Das von uns hergestellte Vaccin fand praktische Verwendung entweder in Mengen zu 10, 20 und 30 ccm, oder aber zu 10, 15 und 20 ccm zu 3 subkutanen Injektionen in Zwischenräumen von 7—10 Tagen. An der beigeschlossenen Tabelle läßt sich der Verlauf der Temperaturreaktion nach Vaccination einer künstlichen Infektion bei zwei Füllen ablesen; die lokale Reaktion jedoch besteht im Auftreten einer mehr oder weniger ausgesprochenen Schwellung, die ohne Abscedierung nach einigen Tagen schwindet. Die erste Versuchsreihe von Schutzimpfungen mit gewöhnlichen, bei 50—60° C erwärmten Bouillonkulturen von Drusestreptokokken mißlang in technischer Hinsicht. Nach dem Erwärmen prüfte man die Kulturen auf ihre Sterilität durch Aussaat auf gewöhnliche Bouillon und, da kein Wachstum eintrat, so impfte ich die Füllen in der festen Ueberzeugung, abgetötete Kulturen vor mir zu haben. Wie es sich aber herausstellte, traten bei den Tieren schwere und tödliche Infektionen auf. Später fand ich, daß zum Auffinden von Streptokokken bei der Druse man nicht gewöhnliche, sondern verzuckerte oder mit Pferdeserum versetzte Bouillon benutzen müsse, da man sonst nicht stets eine Kultur erhält. Solch eine erwärmte, aber nicht ganz sterile Kultur wurde 3 Füllen intravenös 20, 30 und 40 ccm und dem vierten 30 ccm in die Glutäen injiziert. Alle vier erkrankten an einer schweren Allgemeininjektion und 2 Füllen gingen nach 3 Wochen ein. Die anderen 2 Füllen genasen nach einem Monat und blieben beim Prüfen ihrer Immunität nach Ablauf von 57 und 73 Tagen, nach Schwund des Fiebers, durch Infizierung der Nasenschleimhaut mit virulenten Streptokokkenkulturen (vermittelt eines Tampons) und durch natürliche gewöhnliche Infektion gesund. Es muß bemerkt werden, daß alle Füllen, sowohl aus dieser Versuchsreihe, als auch aus den folgenden, nach der Vaccination in den Stall zusammen mit anderen mit Druse infizierten Pferden untergebracht werden und somit einer natürlichen Infektion ausgesetzt waren.

Zwei Füllen wurden anfangs je 10 ccm und 10 Tage später je 50 ccm derselben Bouillonkultur, jedoch einem subkutan, dem anderen intravenös injiziert. Beide bestanden die erste Einverleibung mit unbedeutendem Temperaturanstieg, die zweite intravenöse Injektion verlief ebenfalls gut, wogegen die zweite subkutane Inokulation einen Anstieg bis zu 40° C, der später weniger hoch war, zur Folge hatte; im ganzen jedoch währte in diesem Falle das Fieber fast einen Monat. Die Submaxillardrüsen waren geschwollen, eine Zeitlang bestand Husten und erschwertes Atmen, was auf ein Ergriffensein der Bronchen und Lungen hinwies, und außerdem stellte sich Exanthem mit nachfolgender Desquamation der Hautdecken ein. Dieses letztere Symptom manifestierte sich bei einem Füllen, das intravenös behandelt wurde. Nach zwei Monaten erkrankte dieses Füllen an einer leichten Form von Druse mit leichtem Fieber und ohne Abscedierung. Somit ergab die subkutane Injektion einer abgeschwächten Kultur zwar keine starke, aber anhaltende Infektion, wogegen die intravenöse eine unbedeutende und kurze Temperaturreaktion zur Folge hatte, dafür aber keinen Schutz gewährte vor einer natürlichen Infizierung mit Druse, welche zwei Monate nach der Schutzimpfung sich einstellte.

In der zweiten Versuchsreihe benutzte man eine gewöhnliche, mit 0,5 Phenolzusatz vermengte Streptokokkenbouillonkultur. Einem Füllen wurde subkutan, dem anderen intravenös anfangs 10 ccm und später 20 ccm inokuliert, was einen unbedeutenden Temperaturanstieg (nicht höher als 39,3° C) zur Folge hatte. Beide erkrankten im infizierten Stalle nach 1½ Monaten

Pferd No. 112; Gewicht 8 P. 25 Pfd.

Pferd No. 104; Gewicht 10 P. 10 Pfd.





an Druse, wobei das eine von ihnen ein Exanthem der Hautdecken aufwies. Einen Monat nach Ablauf der Druse verlief die künstliche Infizierung der Nasenschleimhaut negativ. Dieser Versuch bewies, daß das von uns benutzte gewöhnliche Bouillonvaccin nicht genügte, um eine Druseinfektion zu verhindern.

Die dritte Versuchsreihe wurde mit einer 10mal konzentrierten und durch 0,5 Proz. Phenolzusatz abgetöteten Bouillonkultur angestellt. Jedes Füllen bekam je 60 ccm konzentrierte, oder was dasselbe ist, je 600 ccm gewöhnlicher Bouillonkultur, in 1, 2 oder 3 Injektionen. Ein Füllen bekam auf einmal 60 ccm Vaccin subkutan, 3 Füllen zu 20 und 40 ccm subkutan, 3 Füllen zu 16, 20 und 30 ccm subkutan und ein Füllen intravenös dasselbe Quantum Vaccine in denselben Dosen.

Alle Füllen ergaben eine Temperaturreaktion, die bei jeder Einspritzung 39,5–40,0° C erreichte und mehrere Tage anhielt, so daß jede folgende Injektion erst nach 7–10 Tagen ausgeführt werden konnte. Die Reaktion war nicht begleitet weder von einer Absonderung der Nasenschleimhaut, noch von einem Anschwellen der Drüsen, was als gewöhnliche Manifestation der Druse gilt. Alle vaccinierten Füllen wiesen nach 3maliger Inokulation eine Gewichtszunahme von 10–45 Pfund auf, bei 2maliger Injektion stellte sich bei zwei Füllen eine Gewichtszunahme von 30 und 50 Pfund ein, ein Füllen hatte eine Einbuße von 10 Pfund und eines schließlich eine Gewichtsabnahme von 12 Pfund. Das Gewicht der Füllen war verschieden und schwankte von 6–12 Pfund. Um eine zu stürmische Reaktion zu vermeiden, beschränkte man sich in der Praxis beim Inokulieren auf 10, 15 und 20 ccm. Jedenfalls ist es ratsam, auf Grund der gemachten Erhebungen einem 3maligen Einverleiben den Vorzug zu geben. Um die Vaccinwirkung an erwachsenen Pferden zu prüfen, wurde 2 großen Pferden das erste Mal je 35 und 30 ccm, das zweite Mal jedoch je 95 und 90 ccm Vaccin eingepitzt. Die Pferde vertrugen die Injektion gut und ergaben das erste Mal einen Anstieg von 39,0–39,2° C, das zweite Mal bis zu 39,3° und 39,9° C. Ob diese Pferde früher irgend wann an Druse gelitten hatten oder nicht, war schwer zu eruieren.

Nach Beendigung der Vaccination wurden 8 Füllen wie auch 4 frische (auch einjährige) anfangs durch die Nasenschleimhaut und darauf subkutan mit je 1,5–2,0 ccm einer lebenden virulenten Kultur infiziert. Die erste Infizierung wurde analog den Bedingungen einer natürlichen Infektion ausgeführt, die zweite, stärkere diente uns teilweise zur Kontrolle der ersten Infektion, teils zur vollständigeren Bestimmung des Grades der durch die Vaccins erreichten Immunität.

Das Resultat war folgendes: Mit Ausnahme eines Füllens, dem 60 ccm Vaccin einmalig inokuliert wurde und welches nach natürlichem Infizieren an einer leichten Form von Druse mit nachfolgendem Exanthem erkrankte, reagierten alle anderen vaccinierten Füllen beim künstlichen Infizieren der Schleimhaut mit einem Anstieg bis zu 38,9–39,3° C ohne Absonderung der Nasenschleimhaut und ohne Schwellung der Submaxillardrüsen. Bei den Kontrollfüllen stieg die Temperatur fast ebenso hoch an: 39,1–39,5° C, es stellte sich jedoch eine starke Hyperämie der Nasenschleimhaut ein mit serösem und serös-eitrigem Sekret und mit mehr oder weniger ausgesprochener Anschwellung der Submaxillardrüsen ein. Bei einem von diesen Füllen stieg die Temperatur auf 39,5° C unter den Erscheinungen einer Proctitis an. Allen, sowohl den vaccinierten, als auch den Kontrollfüllen, wurde zum Schluß des Versuches

subkutan je 1,5—2,0 ccm einer lebenden Bouillonkultur des Drusestreptococcus eingespritzt, was in beiden Gruppen einen Anstieg von 39,2 bis 39,6° C ergab, mit Ausnahme von zwei vaccinierten, bei welchen die Temperatur nur 38,8° C erreichte. Unter den übrigen 6 vaccinierten beschloß in 2 Fällen die lokale Reaktion mit Abscedierung, welche letztere eine Incision erforderte, wogegen von 3 Kontrollfüllen, die man subkutan injizierte, 2 an der Infektionsstelle Abscesse und eins von ihnen eine Proctitis bekamen. Somit sprechen die auch bei der subkutanen Infektion erzielten Resultate zu Gunsten der Vaccination.

Ein zufälliges Erkranken an Druse in ziemlich schwerer Form mit fieberhaftem Verlauf eine ganze Woche lang (Maximalanstieg bis zu 39,9° C) betraf in unserem Pferdestalle ein erwachsenes Pferd, das mit den Scharlachstreptokokken immunisiert wurde und intravenös während 68 Tagen 137 ccm einer abgetöteten Bouillonkultur und darauf 343 ccm einer lebenden Kultur erhalten hatte. Dieser Fall lehrt, daß allem Anschein nach die Immunisation gegen die Druse nur mit den spezifischen Druse- und nicht mit Scharlachstreptokokken erzielt werden kann und daß zwischen diesen zwei nahen Arten der Infektion dennoch eine Differenz von pathogenen und folglich von immunisierenden Eigenschaften besteht.

Auf Grund der gewonnenen Erhebungen und des Versuches, der uns mit anderen beim Menschen und bei Tieren ausgeführten Vaccinen zu Gebote steht, läßt sich voraussagen, daß die Vaccination als Schutzmaßregel zur Bekämpfung der Druse nur eine relative Bedeutung haben kann. Durch Schutzimpfung wird die Erkrankung und die Sterblichkeit unter den vaccinierten Tieren vermindert, jedoch sind vereinzelte Erkrankungen an Druse nicht ausgeschlossen. Erkrankungen unter den vaccinierten sind um so eher möglich, je mehr Zeit seit der Vaccination verstrichen; die praktische Erfahrung wird erst zeigen, wie lange die Vaccination ihre Wirkung bewahrt und ob es noch einer Revaccination, wie z. B. bei den Anthraxvaccinen bedarf. Jedenfalls hat die von uns in Vorschlag gebrachte Drusevaccination vor den früher üblichen Vaccinationsverfahren — die Infektion der Tiere mit den pathologischen Produkten aus der Nase und den Lymphdrüsenabscessen (Viborg und Toggio, Tätray Jolly et Leclainche) oder die intravenösen Injektionen einer lebenden Streptokokkenkultur der Druse (Sand und Jensen) — den Vorzug der Ungefährlichkeit.

Cappalletti e Vivaldi<sup>1)</sup> versuchten Mäuse und Kaninchen mit abgeschwächten Bouillonkulturen des Drusestreptococcus zu immunisieren, erzielten jedoch dabei keine absolute und andauernde Immunität.

Was die Schutzimpfungen mit Antistreptokokkenserum betrifft, so können dieselben keinen so großen praktischen Wert haben wie die Vaccine, da die Serumwirkung noch geringer als diejenige der Vaccine andauert. In einzelnen Fällen jedoch, z. B. wenn bereits eine Druse-epizootie in irgend einem Pferdestalle besteht, kann das Einspritzen von Serum erfolgreich mit der Vaccination kombiniert werden, wobei die schnell eintretende, aber kurz anhaltende passive Immunität in die aktive und länger währende übergeht.

Jess<sup>2)</sup>, der die Frage über die Schutzimpfwirkung des Antidruse-serums, welches einigen Aerzten keine günstigen Resultate ergab, be-

1) Ann. d'Igiene Sperim. Vol. VII. 1898.

2) Berlin. Tierärztl. Wochenschr. 1903. No. 14.

spricht, schlägt unter anderem vor, gleichzeitig oder nach Anwendung des Serums die Kultur des Drusestreptococcus einzuspritzen, um eine andauernde Immunität zu erzielen. Dieses Verfahren der kombinierten Immunisation jedoch mit lebenden Kulturen ist mit einem gewissen Risiko der Infektion verbunden, ungeachtet der gleichzeitigen Anwendung von Serum, weshalb wir der Meinung sind, daß unser Vorgehen, die Vaccination mit abgetöteten Kulturen, nach dieser Richtung hin vorzuziehen ist.

## II. Die Scharlachvaccine.

Bevor wir über die Scharlachvaccine zu sprechen kommen, müssen wir uns darüber klar werden, welche Gründe vorliegen, um den Streptococcus als den Erreger des Scharlachs zu betrachten und welche Rolle ihm überhaupt in der Pathologie des Scharlachfiebers, wenn nicht als diejenige eines spezifischen, so doch wenigstens als eines das Grundleiden komplizierenden infizierenden Agens zufällt.

Seit den bakteriologischen Untersuchungen der membranösen Anginen durch Löffler<sup>1)</sup> läßt sich als sichergestellt annehmen, daß die Angina scarlatinosa zum Unterschiede von der diphtherica stets durch eine Vermehrung von Streptokokken auf der Schleimhaut des Isthmus faucium vor sich geht. Zahlreiche Beobachtungen haben desgleichen ergeben, daß gleich nach dem Ergriffensein der Tonsillen die Streptokokken in die nächsten Lymphdrüsen, in welchen der entzündliche Prozeß entweder in Genesung übergeht oder zur Eiterung führt, eindringen. Bei allen Komplikationen des Scharlachs, den Arthritiden, Endocarditiden, Nephritiden etc. ergibt die bakteriologische Untersuchung stets dieselben Streptokokken in Reinkultur [M. Rasskina<sup>2)</sup>, Babes<sup>3)</sup>, Jochmann<sup>4)</sup> u. A.].

Bei Lebzeiten der Kranken lassen sich die Streptokokken in großer Anzahl der Scharlachkranken im Blute und, wie bereits früher vermerkt, beständig auf der Rachenschleimhaut nachweisen. Schließlich sei noch darauf hingewiesen, daß bei dem sogenannten Wund- und postpuerperalen Scharlach an der primären Infektionsstelle zu Anfang der Erkrankung Streptokokken desgleichen nachgewiesen werden können (Brunner<sup>5)</sup>).

Der in Fällen von Scharlachfieber gezüchtete Streptococcus besitzt gewisse Eigentümlichkeiten. Kurth<sup>6)</sup> nennt ihn Streptococcus conglomeratus und nach der Beschreibung von Gordon<sup>7)</sup> unterscheidet er sich in seinen Kulturen von den gewöhnlichen durch die verlängerten Formen der Zellen. Nach Angabe einiger Autoren läßt sich dieser Streptococcus von den anderen vermittelst der Agglutinationsreaktion differenzieren. Interessant ist der Hinweis Finiger, z. B. von Klein<sup>8)</sup>, Cameron<sup>9)</sup>, A. Caddy und N. Cook<sup>10)</sup>, daß bei mit

1) Arb. a. d. kais. Gesundh. 1884.

2) Centralbl. f. Bakt. Bd. V. 1889.

3) Bakter. Untersuchungen und septische Prozesse des Kindesalters. Babes et Cornil, Les bactéries. 1890.

4) Archiv f. klin. Med. Bd. LXXVIII. 1903.

5) Berlin. klin. Wochenschr. 1905. No. 22.

6) Arbeit. a. d. kais. Gesundh. Bd. VII. 1891.

7) Report of the med. Officer. 1900—1902.

8) Brit. Med. Journ. 1885. Proceedings of the Royal Society. 1887.

9) Report of the Medic. Officer. 1885—1886.

10) Cit. nach Baginsky.

Scharlachstreptokokken infizierten Kühen und Kälbern Dermatitis mit nachfolgender Desquamation beobachtet worden sind.

Auf Grund der klinisch-bakteriologischen Untersuchungen spricht Jochmann, der die Spezifität der Scharlachstreptokokken als nicht bewiesen betrachtet, sich dahin aus, daß die Streptokokkeninfektion beim Scharlach eine so hervorragende Rolle spielt, das im Vergleich mit ihr eigentlich der Scharlachprozeß selbst oft von untergeordneter Bedeutung ist. Baginsky nimmt auf Grund seiner mit Sommerfeld<sup>1)</sup> gemeinsamen Untersuchungen schon bestimmt die spezifisch pathogene Rolle des Streptokokken beim Scharlach an.

Trotz aller angeführten Tatsachen, die zu Gunsten nicht nur der pathogenen, sondern auch der spezifischen Rolle des Streptococcus beim Scharlach sprechen, wird dennoch diese bis jetzt von der Mehrzahl der Autoren noch nicht als spruchreif betrachtet.

Als Hauptargumente führt man an die Anwesenheit von Streptokokken im Blute von Kranken und Verstorbenen, die an verschiedenen anderen Infektionen gelitten haben (Morbilli, Variola, Diphtherie etc.). Omeltschenko<sup>2)</sup> fand im Blute von an Ileotyphus Verstorbenen in 82 Proz. Streptokokken. Waele und Sugg<sup>3)</sup> konnten bei der Mehrzahl von Pockenkranken einen Streptococcus, der dazu noch mit dem Serum der Kranken eine stärkere Agglutination als die anderen Streptokokken ergab, nachweisen und nahmen den von ihnen isolierten Streptococcus als das spezifische Virus an. Dieser erste Einwand gegen die Spezifität des Scharlachstreptococcus ist nicht stichhaltig bei einer aufmerksamen Analyse der Tatsachen. Abgesehen davon, daß man den Streptococcus bei den übrigen Infektionen lange nicht so beständig während der Krankheit und hauptsächlich in Leichen als agonalen oder postmortalen Befund antrifft, muß dennoch der Umstand berücksichtigt werden, daß der Streptococcus zur Zahl derjenigen Bakterien gehört, welche nicht nur in Bezug auf den Grad, sondern auch auf die Eigenart seiner pathogenen Eigenschaften die allerverschiedensten Varietäten aufweist. Nach dieser Richtung hin haben wir kein Recht, jeden Streptococcus als Scharlachstreptococcus anzuerkennen und das Vorhandensein der Spezifität der pathogenen Eigenschaften des Scharlachstreptococcus in Abrede zu stellen. Aus den Untersuchungen von Denys, van de Velde, Moser, v. Pirquet<sup>4)</sup>, Rossivall und Schick<sup>5)</sup> u. A. wissen wir, daß man vermittelst Sera die Streptokokken differenzieren kann und daß die therapeutischen Erfolge an Scharlachkranken, welche man vorzüglich mit Serum von Pferden, die mit dem Scharlach- und nicht mit anderen Streptokokken immunisiert worden sind, erzielt hat, zu Gunsten der Spezifität der Scharlachstreptokokken sprechen. Hierauf basieren auch die Mißerfolge bei Behandlung des Scharlachs mit Marmorekschem und Aronson'schem Serum, des durch Immunisation von Pferden mit Streptokokken, die Mäuse und Kaninchen passiert haben, gewonnen, wogegen das Mosersche durch Immunisierung mit Streptokokken, die unmittelbar von Scarlatinafällen entstammen, hergestellt wird.

Einige von Jochmann angeführte Einwände gegen die Spezifität des Streptococcus sind desgleichen nicht ganz stichhaltig. Der eben genannte

1) Berlin. klin. Wochenschr. 1900. No. 27 u. 28. und 1902. No. 48 und 49.

2) Russki Wratsch. 1901. No. 32.

3) Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 25.

4) Berl. klin. Wochenschr. 1902. No. 42.

5) Wien. klin. Wochenschr. 1905. No. 1.

Autor fand, daß in 23 in den ersten 2×24 Stunden untersuchten Fällen von *Scarlatina*, in 6 von blitzartig verlaufenden Fällen und endlich in 16 von 70 Autopsien *Streptokokken* überhaupt nicht nachgewiesen werden konnten. In Betreff der ersten 23 Fälle kann man bemerken, daß einige Autoren, unter ihnen Berger und Baginsky, zulassen, daß bei starker Toxizität der *Streptokokken* und besonders ausgesprochener Empfänglichkeit des Organismus die Infektion sich nur auf die Tonsillen beschränken kann, wo das Toxin, das den Organismus, noch bevor die *Streptokokken* sich in dem inneren Organismus verbreiten, zu Grunde richtet, sich bilden kann. In 4 von 5 untersuchten Fällen von *Scarlatina* „foudroyante“ lag eine Tonsillitis necrotica vor und nur in einem Falle ließen sich keine *Streptokokken* nachweisen. Dieser Fall sowie alle bei der Autopsie erhaltenen negativen Untersuchungsergebnisse können keine einschneidende Bedeutung haben, da der Autor nicht alle Organe untersucht hat und z.B. sich bei ihm keinerlei Hinweise finden, ob er das Centralnervensystem und die Cerebrospinalflüssigkeit untersucht hat oder nicht, wo von Baginsky in einigen Fällen *Streptokokken* sich nachweisen ließen.

Salge<sup>1)</sup> und Hasenknopf und Nedrigailow<sup>2)</sup> hoben das hervor, daß man den *Streptococcus* als den spezifischen Erreger der *Scarlatina* nicht ansehen könne, weil, wie bekannt, diese Krankheit im Gegensatz zu den sicheren durch *Streptokokken* veranlaßten Infektionen eine Reinfektion ausschließt. Hierauf läßt sich erwidern, daß, wenn man beim Scharlachstreptococcus das Bestehen von besonders pathogenen Eigenschaften nicht von der Hand weisen kann, man auch ganz folgerecht die Möglichkeit besonderer Konsequenzen der Infektion, die sich als eine mehr oder weniger ausgesprochene Immunität dokumentieren, zugeben kann. Außerdem wissen wir, daß der Rotlauf und andere *Streptokokken*-infektionen zum Unterschiede von der *Scarlatina* eher einen lokalen Prozeß vorstellen, als eine allgemeine septische Form einer Infektion, dementsprechend auch die Immunität anhaltender und fester sein kann, je verbreiteter und stärker dieselbe in den inneren Organen gewesen. Alle diese Ueberlegungen sind für den Bakteriologen von Bedeutung und erhalten ihre Rechtfertigung unter analogen Umständen anderer Infektionen.

Der letzte ernste Einwand gegen die Spezifität des Scharlachstreptococcus wird von Besredka<sup>3)</sup>, der im Blute von Scharlachkranken keine spezifischen Fixatoren für den Scharlachstreptococcus finden konnte, gemacht. Wie wenig beweisend auch dieses Argument ist, zeigen die Untersuchungen desselben Autors, nach welchem die Menge der Fixatoren nicht stets dem Grade des therapeutischen Effekts der Immunsera entspricht und daß selbst ein hochwertiges Serum keinen Fixator enthält.

Wohl schwerlich bedarf es bei den tierischen Parasiten, die unlängst Siegel<sup>4)</sup> beschrieben, zu verweilen, da ihre pathogene Rolle noch weniger als diejenige der *Streptokokken* bewiesen ist.

So stand die Frage über die pathogenen Eigenschaften des Scharlachstreptococcus, als ich Ende 1904 zu meinen Untersuchungen schritt. Meine Untersuchungen über die Drüse und die Scharlachstreptokokken

1) Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. LVIII. 1903.

2) Charkower med. Zeitschr. 1906. No. 1.

3) Annual. Pasteur. T. XVIII. 1904.

4) Untersuchungen über die Aetiologie des Scharlachs. Berlin 1905.

ergaben einige neue Tatsachen, welche in der Entscheidung der Frage über die Rolle des Scharlachstreptococcus noch mehr zu Gunsten der Spezifität des letzteren sprechen.

Wenngleich Vergleiche noch keine Beweise sind, so bin ich dennoch der Meinung, daß das Bestehen der Druse als einer unstrittigen Streptokokkeninfektion, die durch viele Symptome an den Scharlach erinnert, wenigstens zu Gunsten der Möglichkeit einer ebensolchen allgemeinen Krankheit beim Menschen herangezogen werden kann.

Das positive Vaccinationsresultat gegen die Druse diene nur als experimentelle Basis für die Anwendung der Streptokokkenvaccine auch beim Menschen. Die erste Impfung nahm ich an mir selbst vor<sup>1)</sup> und alsdann schlug ich den Kollegen, in ihrer praktischen Tätigkeit Versuche mit derselben anzustellen, vor.

Die Scharlachvaccine ist ebenfalls eine konzentrierte Bouillonkultur von Streptokokken, die man von Scharlachfällen gewonnen, durch Erhitzen bis auf 60° C abgetötet und der man darauf 0,5 Proz Phenol zusetzt. In jedem ccm ist 0,02—0,03 ccm Satz von bakterieller Masse, durch Zentrifugieren gewonnen, enthalten, 0,02 ccm dieses Satzes entspricht 0,005 g der Trockensubstanz.

Nachdem man die Vaccine behufs gleichmäßiger Verteilung des Satzes durchschüttelt, wird in das Zellgewebe des Unterleibes oder des Rückens zum erstenmal 0,5 ccm (für Kinder von 2—10 Jahren) eingespritzt und dann im Verlauf von 7—10 Tagen noch zweimal wiederholt, wobei die Dosis jedesmal 1½—2mal, entsprechend der erhaltenen Reaktion unter möglichster Vermeidung einer Temperatur von über 39°, vergrößert.

Die Dosis für Kinder unter 2 Jahren ist 2mal geringer, diejenige für Erwachsene 2mal größer. Bei bestehendem Fieber wird keine Vaccination ausgeführt.

Die Anwendung der Scharlachvaccine bei mehr als 700 Kindern verschiedenen Alters hat schon jetzt interessante Daten ergeben. Allem zuvor bestätigt sich, dem Anscheine nach, die Präventivwirkung der Vaccine beim Scharlach. Die Anwendung dieser Vaccine in noch größerem Maßstabe wird ihre praktische Bedeutung schneller klären und die Dauer der Immunität nach derselben näher fixieren. Ihr Verwenden wird, wie das zuerst Langowoi<sup>2)</sup> nachgewiesen, vom Auftreten eines kleinpunktförmigen Exanthems, das dem wahren Scharlachausschlag sehr ähnlich sieht, beobachtet (in 13,3 Proz. auf 120 Fälle), jedoch ohne nachfolgende Desquamation. In einigen Fällen beobachtete man außer dem Ausschlage noch Angina, seltener Erbrechen. Alle diese Symptome bilden das Charakteristikum der Scarlatina, weshalb die Anwendung der Vaccine uns noch ein neues und zwar äußerst wichtiges Argument für die Spezifität des Scharlachstreptococcus und seines Giftes gibt, da gerade dem letzteren am allerehesten diese Symptome zugeschrieben werden müssen.

Nach den Beobachtungen S. J. Slatogorows<sup>3)</sup> erzeugt die Anwendung der Vaccine bei Diphtheriekranken viel öfter als früher ein Sicheinstellen von Scharlachexanthem. Der Streptococcus erzeugt folglich Exanthemata nicht nur bei Tieren, was englische Autoren bei Kühen und Kälbern vermerkt, und, wie bekannt bei Pferden bei der Druse,

1) Russki Wratsch. 1905. No. 30.

2) Die Arbeit erscheint in derselben Zeitschrift.

3) Die Arbeit erscheint in derselben Zeitschrift.

sondern auch beim Menschen, was aus den Versuchen mit unserer Vaccine sichergestellt ist. Das Vaccineerythem hält 1—3 Tage an und wiederholt sich gewöhnlich nicht bei weiteren Vaccinationen, andererseits wurde es bei Kindern, welche Scharlach überstanden hatten, nicht beobachtet.

Dieses Vaccinalexanthem begleitet kein hohes Fieber (nur selten über  $39^{\circ}$  C, gewöhnlich gegen  $38^{\circ}$  C), keine Lymphdrüenschwellung und keine Desquamation, dessenungeachtet ist das Aussehen dieses Ausschlages ein solches, daß selbst erfahrene Aerzte nicht im stande sind, dasselbe von wahren Scharlachexanthem zu unterscheiden. Einige Sera- und medikamentöse Exantheme besitzen nicht dieses charakteristische Aussehen. Die Scharlachvaccination wird, wie wir bereits angeführt, nicht nur von Exanthem, sondern in einigen Fällen auch von Angina, einmal mit leichtem Belag auf den Mandeln und in einem anderen Fall mit der charakteristischen Himbeerzunge gefolgt. Daß in solchen Fällen auf der Rachenschleimhaut Streptokokken angetroffen werden können, will nichts Besonderes sagen, da wir ja unter normalen Bedingungen Streptokokken finden können.

Das Befallenwerden des Isthmus faucium nach der Vaccination läßt sich am ungezwungensten, wie auch das Exanthem, durch Toxinwirkung erklären.

Der Umstand, daß ein und dieselbe Vaccine bei den einen Kindern Exanthem, bei den anderen außerdem noch Erbrechen und Angina und bei den dritten gar keine Erscheinungen hervorrufen und bloß eine kleine Infiltration im Unterhautzellgewebe an der Einstichstelle ergeben, weist nur auf die verschiedene Empfänglichkeit des kindlichen Organismus der Streptokokkeninfektion gegenüber hin.

Wenn uns schließlich durch Anwendung der Vaccine im großen Maßstabe durch viele Beobachter die Anerkennung der Tatsache zugestanden werden wird, daß die Morbidität und Mortalität des Scharlachs abnimmt, so wird wohl schwerlich noch ein triftiger Grund angeführt werden können, der die spezifische Rolle des Scharlachstreptococcus in Frage stellt. Seine pathogene Rolle überhaupt bedarf nicht der Beweisführung, weshalb wir auch die Anwendung unserer Vaccine, unabhängig von dem Gesichtspunkte, den noch viele Aerzte in Bezug auf die Rolle des Streptococcus einnehmen, empfehlen können.

Ist der Streptococcus das spezifische Agens des Scharlachs, so können wir von der Vaccination eine Abnahme der Morbidität und Mortalität bei dieser Krankheit erwarten, kompliziert er jedoch das Grundleiden, welches anderen Ursprunges ist, so läßt sich wenigstens auf eine Abnahme der Mortalität des Scharlachs rechnen. Sowohl in dem einen als auch in dem anderen Falle kann die Vaccination uns als neues, infolge seines geringen Preises sehr zugängliches Mittel bei Bekämpfung eines der schwersten Krankheiten des Kindesalters dienen.

Höchstwahrscheinlich ist die Scharlachvaccine bis zu einem gewissen Grade den Organismus auch gegen andere durch verwandte Streptokokken hervorgerufene Infektionen auf Grund der sogenannten Gruppenimmunisation zu schützen im stande.

*Nachdruck verboten.*

## Zur Frage der Desinfektion von Ess- und Trinkgeschirren.

Von Prof. Dr. M. Beck, Berlin.

Auf die Desinfektion von Gebrauchsgegenständen, wie Messer, Gabeln, Gläser u. dgl. hat zuerst E. v. Esmarch<sup>1)</sup> die Aufmerksamkeit in seiner bekannten Abhandlung „Verbreitung von Infektionserregern durch Gebrauchsgegenstände und ihre Desinfektion“ die Aufmerksamkeit gelenkt. Die Gefahr der Infektion auf diesem Wege der Uebertragung von Krankheitskeimen durch Eß- und Trinkgeschirre ist längst bekannt und v. Esmarch hatte auch in einwandsfreier Weise festgestellt, daß die gebräuchlichen Reinigungsmethoden dieser Gegenstände, selbst wenn sie in der gründlichsten Weise ausgeführt werden, nicht hinreichen, die Infektionskeime vollkommen zu entfernen. Eine sichere Abtötung der Keime erfolgte durch das Einlegen in eine 2-proz. Sodalösung von 50° Wärme. Es unterliegt keinem Zweifel, daß diese Desinfektion große Vorzüge besitzt und selbst in jedem kleinen Haushalt ohne viele Mühe und Umstände angewandt werden kann.

Dennoch erscheint es wünschenswert, die Krankheitskeime, welche an dem Eß- und Trinkgeschirr von Kranken, namentlich von Phthisikern, hängen bleiben, auf eine noch einfachere Weise ohne Anwendung von höheren Hitzegraden unschädlich zu machen. Ein anderer Umstand dürfte auch bei der v. Esmarch'schen Methode noch zu berücksichtigen sein, daß es nämlich schwierig ist, ohne Thermometer, also nur schätzungsweise die Temperatur zu bestimmen. Denn es ist doch selbstverständlich, daß man sich nicht immer mit dem Thermometer in der Hand davon überzeugen kann, ob die richtige Temperaturgrenze von 50° erreicht ist. Erfahrungsgemäß wird jedoch die Temperatur höherer Grade in der Regel zu hoch geschätzt. Eine Temperatur unter 50° wirkt aber bei der 2-proz. Sodalösung nicht hinreichend desinfizierend. Bei zu hohen Temperaturen werden andererseits die Griffe der Messer und Gabeln leicht gelockert und außerdem ist durch höhere Temperaturgrade ein Springen der Gläser zu befürchten.

Ich hatte es mir daher zur Aufgabe gemacht, unter den bekannten Desinfektionsmitteln solche ausfindig zu machen, mit denen es gelingt, in verhältnismäßig kurzer Zeit Löffel, Gabel, Messer, Gläser u. dgl. vollkommen auch in der Kälte keimfrei zu machen, ohne daß die Gegenstände selbst durch diese Mittel angegriffen oder unbrauchbar gemacht werden. Die meisten der gebräuchlichen Desinfektionsmittel eignen sich teils wegen ihrer giftigen Eigenschaften, teils wegen ihres intensiven, den Gegenständen längere Zeit anhaftenden Geruchs zu diesem Zwecke nicht.

Die Versuche wurden in der Weise angestellt, daß Reinkulturen von *Staphylococcus pyogenes aureus*, auf Agar 24 Stunden gewachsen, und Mischungen von Staphylokokken mit einem Tuberkelbazillen reichlich (Gaffky 10) enthaltenden menschlichen Sputum an die Zinken einer aus Kienholz geschnitzten Gabel, an einen Blechlöffel, an die Zinken einer mit Holzgriffen versehenen eisernen Gabel und in einigen

1) v. Esmarch Verbreitung von Infektionserregern durch Gebrauchsgegenstände und ihre Desinfektion. (Hyg. Rundschau. 1901. No. 2.)



Fällen an Deckgläschen in einer etwa 1—2 mm hohen Schicht aufgetragen wurden. In einigen Versuchen wurden auch Milzbrandsporen verwendet. Die Reinkultur und das Sputum ließ ich dann  $\frac{1}{2}$ — $\frac{3}{4}$  Stunden an den Gegenständen antrocknen, darauf wurden diese in die Desinfektionsflüssigkeit  $\frac{1}{4}$ —1 Stunde und auch länger gelegt, die Gegenstände wurden dann aus dem Desinfektionsmittel genommen und zunächst durch eine entsprechende Neutralisationsflüssigkeit, in die sie 10—15 Minuten lang gelegt wurden, nach dem Vorgange von Paul und Krönig neutralisiert (meist in 0,75- bis 1-proz. Ammoniakflüssigkeit) und dann in sterilisiertem Wasser abgewaschen. Hierauf wurden die infizierten Teile der Gegenstände auf Agarplatten ausgestrichen oder auf Meerschweinchen subkutan verimpft. Die Agarplatten wurden bei 37° in den Brutschrank gestellt und 3mal nach je 24 Stunden die Zahl der auf der Platte gewachsenen Keime bestimmt.

Die geimpften Meerschweinchen wurden 6 Wochen lang beobachtet und dann getötet. Die Kontrolltiere erhielten die in der oben angegebenen Weise an die Gegenstände angetrockneten, mit Staphylokokken vermischten Sputumteilchen nur ohne vorherige Behandlung mit einem Desinfektionsmittel genau wie die anderen Meerschweinchen unter die Haut geimpft und wurden mit den anderen Tieren nach 6-wöchentlicher Beobachtung getötet.

Geprüft wurde Formaldehyd in 1- und 1,5-proz. wässriger Lösung, 15-proz. wässrige Septoformlösung, eine 15-proz. Formaldehydseifenlösung, deren Stammlösung zusammengesetzt war aus 20-proz. Formaldehyd und 15-proz. Kaliseife, 1- und 2-proz. Kresolwasser, 0,5-proz. Kresol mit 0,75-proz. hydrindensulfosaurem Natron, 10-proz. Lysol, 10-proz. Kresolseifenlösung, 1-proz. Karbolwasser und 1-proz. Karbolwasser mit 2-proz. Kochsalz, ferner 2-proz. Kalilauge, 10-proz. kalte Sodalösung, 10-proz. wässrige Alaunlösung, 1-proz. Lösung von Cuprum sulfuricum (in heißem Wasser gelöst und dann erkalten lassen), 3-proz. Borsäure, 3-proz. Boraxlösung, 1- und 2-proz. wässrige Lösungen von hypermangansaurem Kali, 2-proz. Wasserstoffsuperoxyd, 5-proz. Essigsäure und 60-proz. Alkohol.

Die Einwirkung der Desinfektionsmittel geschah bei Zimmertemperatur, im Durchschnitt bei 17—18°.

Die zu den Versuchen benutzten Staphylokokken waren nach dem Antrocknen an die oben beschriebenen Gegenstände an diesen noch nach 8 Tagen durch Verimpfung auf Agar in sehr reichlicher Anzahl nachweisbar und hatten schätzungsweise an Zahl kaum um  $\frac{1}{4}$  der ursprünglichen Menge abgenommen.

In den Formaldehyd- und Formaldehydseifenlösungen waren die Staphylokokken und die in dem Sputum enthaltenen Tuberkelbacillen selbst nach 3 Stunden langer Einwirkung nicht abgetötet, jedoch konnte ich auch bei diesen Versuchen die Beobachtung machen, daß die angetrockneten Milzbrandsporen durch eine 1,5-proz. wässrige Formaldehydlösung bereits in 24 Stunden vollkommen abgetötet waren.

Die Kresolseifenlösung, Lysol, Kresolwasser, das Karbolwasser und das Gemisch von Kresol und hydrindensulfosaurem Natron in der oben angegebenen Verdünnung waren nicht im stande, die an die Gebrauchsgegenstände angetrockneten Keime in 1 Stunde vollständig zu vernichten, jedoch war bei dem letzteren eine erhebliche entwicklungshemmende Wirkung zu beobachten.

Formaldehyd und die Kresolpräparate wurden eigentlich nur zum

Vergleich in den Versuch hereingezogen. Denn es verbietet sich der Gebrauch dieser Desinfizientien für den angegebenen Zweck schon durch den unangenehmen Geruch, der nach Einlegen in solche Flüssigkeiten den Gegenständen anhaftet. Namentlich die hölzernen Teile ließen noch mehreren Tagen den unangenehmen Geruch nach Formaldehyd bezw. Kresol erkennen.

Borsäure, Borax, Alaun, 10-proz. kalte Sodalösung und Kaliseife hatten so gut wie gar keine abtötende Wirkung in den genannten Konzentrationen hervorzurufen vermocht, fast ebenso schlecht wirkte das 1-prom., etwas besser die 2-prom. Lösung von hypermangansaurem Kali. Nach 1—2-stündiger Einwirkung war die Keimzahl auf den Agarplatten fast ebenso groß wie auf den zur Kontrolle hergestellten Platten. Durch die Kali hypermanganicumlösung wurden, wie vorausszusehen, die Holzteile stark gebräunt und ließen sich auch durch längere Thiosulfateinwirkung nicht wieder aufhellen.

Erheblich besser wirkte die Cuprum sulfuricumlösung, welche nur wenige Keime zur Entwicklung kommen ließ, jedoch waren nach einer  $\frac{1}{2}$ -stündigen Einwirkung die Metallteile vollkommen schwarz geworden; auch ziemlich entwicklungshemmend erschien die 5-proz. Essigsäure, sowie das 2-proz. Wasserstoffsuperoxyd nach 1-stündiger und  $\frac{1}{2}$ -stündiger Einwirkung. Eine 2-proz. wässrige Lösung von Kalilauge hatte nach 1 Stunde fast sämtliche an die Gegenstände angetrockneten Staphylokokken abgetötet, es war nur auf 1 Platte noch 1 Keim übrig geblieben. Jedoch war dieselbe Lösung nicht im stande, in der gleichen Zeit die auf Sputum angetrockneten Tuberkelbacillen zu vernichten. Die mit dem so behandelten Sputum geimpften Meerschweinchen zeigten keinen Unterschied gegenüber den Kontrolltieren nach 6 Wochen langer Beobachtung. Bei der Tötung waren sämtliche Tiere gleichmäßig mit allgemeiner Tuberkulose behaftet. Jedenfalls war infolge der Koagulation der oberflächlichen Teile des Sputums nach dem Antrocknen das Mittel nicht im stande, in die inneren Sputumpartikelchen einzudringen und die hier befindlichen Tuberkelbazillen abzutöten.

Von allen angewandten Mitteln hat sich der 60-proz. Alkohol als das beste Desinficiens gegenüber den Staphylokokken und auch den Tuberkelbacillen erwiesen. Nach  $\frac{1}{2}$ -stündiger Einwirkung des 60-proz. Alkohols auf die infizierten Gegenstände, die darauf einfach in sterilisiertes Wasser gelegt wurden, waren regelmäßig sämtliche Keime abgetötet und auch das auf Meerschweinchen verimpfte Sputum war nicht mehr im stande, bei diesen Tieren Tuberkulose zu erzeugen. Wiederholt vorgenommene Untersuchungen bestätigten jedesmal diese Tatsache. Nach  $\frac{1}{4}$ -stündiger Einwirkung waren die Staphylokokken gleichfalls abgetötet, jedoch genügte sie nicht, um die Entwicklung der Tuberkelbacillen in dem Meerschweinchenkörper vollkommen hintanzuhalten.

Einige Beispiele mögen dies beweisen:

Am 21. Februar 1906 Staphylokokkenreinkultur an Gebrauchsgegenstände (Holzgabel, Eisengabel mit Holzbeschlag, Löffel) angetrocknet, desgl. Tuberkelbacillenreinkultur, auf Glycerinbouillon gezüchtet. Die Gegenstände  $\frac{1}{4}$  Stunde in 60-proz. Alkohol gelegt, dann 10 Minuten in sterilisiertes Wasser, und darauf auf Agarplatten ausgestrichen bezw. Meerschweinchen unter die Haut gebracht, desgleichen mit der Reinkultur 2 Kontrollmeerschweinchen subkutan geimpft. Am 24. Februar auf sämtlichen Platten keine Staphylokokken. Die Meerschweinchen wurden am 30. März, also nach 40 Tagen, getötet. Die Meerschweinchen zeigen keine offene Impfstelle, die Drüsen an der Impfstelle sind vergrößert, die inneren Organe sind frei von Tuberkulose. Die Kontrolltiere zeigen offenes Impfgeschwür, die Inguinaldrüse käsig-eitrig, Milz stark vergrößert,

tuberkulös, in der Leber beginnende Tuberkulose, Lungen durchsetzt mit zahlreichen tuberkulösen Knötchen.

Am 24. Februar in derselben Weise 4 Tage alte Staphylokokkenkultur von Agar an die Gebrauchsgegenstände getrocknet; ebenso mit Staphylokokken (durch längeres Verreiben) vermisches tuberkulöses Sputum (Gaffky 10, Streptokokken und Diplokokken reichlich). Die Gegenstände  $\frac{1}{2}$  Stunde in 60-proz. Alkohol gelegt, in Wasser abgespült, Ausstrich auf Agar, Impfung auf Meerschweinchen.

Auf den Platten von der Agarreinkultur sowohl als auf den Platten mit dem Sputumgemisch keine Staphylokokken gewachsen. Die geimpften Meerschweinchen werden nach 6 Wochen getötet und vollkommen frei von Tuberkulose gefunden. Die Kontrolltiere zeigen offenes Impfgeschwür und allgemeine Tuberkulose der inneren Organe (Milz, Leber und Lungen).

Die desinfizierenden Eigenschaften des Alkohols sind schon längst bekannt und spielen namentlich unter den Chirurgen und Geburtshelfern bei der Händedesinfektion eine Rolle.

Die Literatur über die Desinfektionswirkung des Alkohols in verschiedenen Konzentrationen ist von Russ<sup>1)</sup> in übersichtlicher Weise zusammengestellt. Auch von Minervini<sup>2)</sup> sind eingehende Untersuchungen in dieser Richtung angestellt worden. Er hatte gefunden, daß an Seidenfäden angetrocknete Staphylokokken

durch 99-proz. Alkohol nach 3 Tagen noch nicht sicher,

„ 70 „ in 1 Stunde,

„ 25 „ in 24 Stunden abgetötet waren.

*Pyocyaneus*, an Seidenfäden angetrocknet, war durch 99-proz. Alkohol nach 24 Stunden abgetötet,

durch 70-proz. in 10 Minuten,

„ 25 „ in 1 Stunde,

an Stahlnadeln angetrocknete Staphylokokken durch 99-proz. Alkohol nach 5 Tagen,

durch 70-proz. Alkohol in 10 Minuten,

„ 25 „ „ in 6 Stunden,

*Pyocyaneus*, an Stahlnadeln angetrocknet, durch 99-proz. Alkohol in 12 Tagen abgetötet,

durch 70-proz. in 5 Minuten,

„ 25 „ in 30

Man sieht also hieraus, daß die wirksamste Konzentration die 70-proz. wässrige Lösung darstellt.

Ebenso hatten Harrington und Walker<sup>3)</sup> durch umfangreiche Versuche festgestellt, daß der 60—70-proz. Alkohol bei trocknen Bakterien am wirksamsten ist. Salzwedel und Elsner<sup>4)</sup> stellen die 55-proz. wässrige Lösung des Alkohols an Desinfektionskraft mit dem 1-prom. Sublimat auf eine Stufe und erklären deren Wirkung gleichwertig einer 3-proz. Phenollösung. Dieselben hatten auch den verdünnten Alkohol zur Abtötung der Eiterkokken in angetrockneten Wundsekreten empfohlen, und in der Tat hat der Alkoholverband namentlich in der kleinen Chirurgie sich ein dauerndes Feld erobert.

Wirgin<sup>5)</sup> fand bei seinen ausgedehnten Versuchen mit den verschiedenen Alkoholen, daß in der Methylreihe das 60—70-proz. Alkoholwassergemisch, in der Aethylreihe der 60-proz. und in der Propylreihe

1) Russ, Zur Frage der Bakterizidie durch Alkohol. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVII. p. 111 und 280.)

2) Minervini, Zeitschrift für Hygiene. Bd. XXIX. 1898.

3) Harrington and Walker, Boston medical and surg. Journal. 1903.

4) Berliner klinische Wochenschrift. 1900. No. 23.

5) Wirgin, Zeitschrift für Hygiene. Bd. XL. 1902.

der 30-proz. Alkohol trocknen Keimen gegenüber sich am wirksamsten erweist. Und unter gewissen Bedingungen (gegen in Serum eingetrocknete Pyogenes Keime) erwies sich der Alkohol als kräftigeres Desinficiens als selbst 2-prom. Quecksilbersublimat und 5-proz. Formaldehyd (wohl infolge besseren Eindringungsvermögens des Alkohols).

Die keimtötende Wirkung des 60—70-proz. Alkohols ist also unbestritten, und man muß sich diese Wirkung als eine reine Giftwirkung vorstellen, nicht, wie man früher glaubte, daß er infolge der Wasserentziehung die Keime schädige.

Für den Gebrauch des Alkohols als Desinfektionsmittel von Gebrauchsgegenständen (Eß- und Trinkgeschirren) kommt außerdem in Betracht, daß er auch die Fette bis zu einem gewissen Grade aufzulösen vermag.

Der Gebrauch des absoluten Alkohols des Handels wäre allerdings für den angegebenen Zweck zu teuer. Ich habe daher auch den mit Pyridinbasen denaturierten Spiritus in derselben Weise geprüft und gefunden, daß er dasselbe leistet wie der nicht denaturierte. Auch der durch Methylalkohol denaturierte Spiritus kann verwendet werden. Es kommt dabei selbstverständlich der eigenartige unangenehme Geruch des Pyridins zur Geltung, dieser ist aber in der 60-proz. Lösung ganz erheblich abgeschwächt. Der käufliche denaturierte Spiritus kommt in der Regel mit einem Gehalt von 90—94 Proz. Alkohol in den Handel. Das Liter kostet 30—35 Pfg. Zur Desinfektion von Gabeln, Messer, Löffeln, Gläsern und anderen Trinkgeschirren werden diese  $\frac{1}{2}$  Stunde lang in eine Mischung von 2 Teilen denaturierten Spiritus und 1 Teil Wasser gelegt. Darauf werden die Gegenstände in heißem Wasser abgespült oder einige Minuten in kaltem Wasser hin- und hergeschwenkt und abgetrocknet. Der Pyridingeruch haftet an Metallteilen gar nicht, an Glas nur wenig, aus den Holzteilen verschwindet er, sobald das Holz wieder vollkommen trocken ist.

Mit 1 Liter Spiritus läßt sich  $1\frac{1}{2}$  Liter Flüssigkeit herstellen, und diese Menge genügt schon für eine ganz erhebliche Anzahl von Messern, Gabeln und Löffeln. Der Preis des Desinfektionsmittels ist nicht zu hoch, wenn man bedenkt, daß sich ein und dieselbe Lösung mehrere Tage hält, wenn sie nach dem Gebrauch in gut verkorkte Flaschen umgefüllt wird. Denn die festen Bestandteile, welche den gebrauchten Messern und Gabeln sowie auch den Löffeln anhaften, sind gering. In der Regel kleben die Speisereste auch beim Einlegen in den Spiritus sofort fest an dem Geschirr an, so daß sie nach der Desinfektion erst auf mechanische Weise, durch Abreiben mit einem Tuch, sich vollständig entfernen lassen.

Die Feuergefährlichkeit des 60-proz. Spiritus ist meines Erachtens nicht so groß, um von dem Gebrauch dieses einfachen Desinfektionsmittels abzuhalten, natürlich wird man diejenigen, welche mit der Desinfektion beauftragt werden, auch auf diesen Punkt aufmerksam machen müssen und sie davor warnen, dem offenen Feuer zu nahe zu kommen.

Berlin im April 1906.

*Nachdruck verboten.*

## Kasuistische Mitteilungen zur Frage der Rattenpestdiagnose.

[Aus dem staatlichen hygienischen Institut zu Hamburg (Direktor: Prof. Dr. Dunbar).]

Von Dr. Klster, Abteilungsvorsteher am Institut.

Mit 1 Tafel.

(Fortsetzung.)

War es auch in hohem Maße unwahrscheinlich geworden, daß die in Frage stehende Ratte einer Pesterkrankung erlegen war, so mußte man doch immerhin aus Vorsicht noch mit der Möglichkeit rechnen, daß das Tier vielleicht spärliche Pestkeime in seinen Organen beherbergte, die sich den in solchem Falle nicht hinlänglich zureichenden Hilfsmitteln der Anfangsdiagnose leicht entziehen können. Es wurden außer den angelegten Kulturplatten auch die bei dringend pestverdächtigen Fällen hier üblichen 8 Versuchstiere geimpft. Von ihnen, 3 Meer-schweinchen und 5 Ratten, starben eine Ratte nach 2 Tagen und 2 Meer-schweinchen nach 9 bzw. 13 Tagen. Der Tod der Meer-schweinchen trat verhältnismäßig spät ein; der Sektionsbefund war völlig unverdächtig. Das von den Versuchsratten eingegangene Tier, mit 0,5 ccm einer Lungenaufschwemmung der eingelieferten Ratte subkutan geimpft, wies außer einer ausgesprochenen Injektion ebenfalls keinerlei für Pest verdächtige Veränderungen auf. In den Organausstrichen waren wiederum die pestähnlichen Polbakterien zu finden, aber nur in spärlicher Zahl, während alle Uebergänge von ihnen bis zu den gleichmäßig durchgefärbten Formen zu bemerken waren. Die Kulturplatten dieses Tieres ließen, genau wie die Originalratte, keine auch nur entfernt an Pest erinnernden Kolonien auswachsen.

Wir haben bei auf trockenen Fleischwasseragarplatten angelegten Ausstrichen von noch so sehr durch Mischinfektion bzw. Fäulnis verunreinigten Organen vom 3.—4. Tage an bis jetzt wohl stets etwa vorhandene Pestkeime als typische Pestkolonien nachweisen können, während innerhalb der ersten 24—48 Stunden ihr Auffinden allerdings Schwierigkeiten begegnen kann. Daß in dem vorliegenden Falle Pestkolonien nicht gewachsen sind, darf ich als sicher betrachten. Dieser Umstand und der Ausfall der Impfungen sowohl der ersten 8, wie der mit der gestorbenen Impratratte und mit Kulturmaterial der Original-Lungenplatte infizierten sekundären Tiere schließen demnach eine Pesterkrankung der eingelieferten Ratte sicher aus.

Von Interesse dürfte noch die Mitteilung sein, daß von der Lungenplatte der Ausgangsratte eine Reihe Bakterienstämme reingezüchtet wurden, die im Mäuseversuch teilweise ebenfalls noch eine geringe Polfärbung aufwiesen. 7 der isolierten Bakterien, die der Gruppe des *Bact. proteus* zuzuzählen sein dürften, zeigten untereinander nur unbedeutende kulturelle Verschiedenheiten. Zwei weitere Stämme rechne ich in die *Coli-Typhus*gruppe; sie erinnerten an *Paratyphus*, waren aber mit keinem der bekannten Vertreter dieser Klasse näher verwandt. Ein 10. Stamm stellte sich als *Kokkenart* heraus. Nicht gewonnen worden sind die grampositiven Stäbchen, welche, wie erwähnt, sich hier und da im Lungenausstrich dargeboten hatten.

Allen isolierten Kulturen kam einzeln keine nennenswerte Infektiosität zu. Der Tod der einen Versuchsratte ist möglicherweise auf Toxinwirkung zurückzuführen.

Zum Schlusse sei mitgeteilt, daß von dem Dampfer Baron Balfour im ganzen 14 Ratten zur Untersuchung eingeliefert wurden, 13 *Mures ratti*, 1 *Mus alexandrinus*. Sämtliche Tiere waren mehr oder minder faul. Bei einem der späteren *M. ratti* wurde nochmals ein ganz ähnlicher makroskopischer und mikroskopischer Befund erhoben, wie er oben beschrieben ist. Auch hier erwiesen Kultur und Tierversuch, daß eine Pestinfektion nicht vorgelegen hatte.

### III. Pestfall „Karthago“.

Von Stabsarzt Dr. Arnold Schumacher, kommandiert zum hyg. Institute.

Am 23. Dezember 1905 wurde dem hygienischen Institute eine tote Ratte, als vom Dampfer „Karthago“ stammend, übergeben. Die Sektion ergab eine mäßige Injektion des Unterhautbindegewebes am Bauche, die durchschnittenen Gefäße daselbst bluteten noch leicht. In der Gegend des Beckens war eine etwa fünfpfennigstückgroße, freie Blutansammlung unter der Haut sichtbar. Da die durchschnittenen Gefäße noch bluteten, war die Annahme gerechtfertigt, daß die Ratte erst kürzlich eingegangen war. Die am Becken befindliche Blutung war offenbar durch ein Trauma bald nach dem Tode, vielleicht durch das Fassen mit der Greifzange verursacht worden. Bei der Geringfügigkeit der Verletzung konnte dieselbe von vornherein nicht als Todesursache in Frage kommen. Die weitere Untersuchung zeigte die Inguinaldrüsen hirsekorn groß mit geringer Rötung. Die Drüsen am Hals waren etwas geschwollen, kleinlinsengroß, nicht wesentlich gerötet, auf dem Durchschnitt von grauer Farbe. Die Leber war auffallend groß, sehr saftig, von dunkelbraunroter Farbe; Herde nekrotischer Art ließen sich nicht finden. Die Milz war nur mäßig vergrößert, nicht besonders saftreich, ohne auffallende Veränderung. Die Lungen zeigten eine hellrosa Farbe. Die rechte Lunge wies an ihrer Oberfläche 3 etwa stecknadelkopfgroße rote Flecken auf. Der Magendarmkanal war fast völlig leer, die Peyer'schen Plaques traten nirgends deutlich hervor. Nach genauerem Absuchen der Radix mesenterii fand sich dem Darme dicht anliegend eine etwa halb erbsengroße, rotschwarze Geschwulst, die offenbar hämorrhagisch infiltrierte Mesenterialdrüsen darstellte. Sie ließ sich aus den Blättern des Mesenteriums leicht herauschälen und zeigte auf dem Durchschnitt dieselbe braunschwarze Färbung wie von außen. Im übrigen waren an dem Tiere keine krankhaften Veränderungen festzustellen. Die mikroskopische Untersuchung zeigte, daß alle Organe mit kleinen mehr oder weniger kurzen Bakterien angefüllt waren, die sich bei kurzer Methylenblaufärbung (Loeffler) meist in toto gefärbt hatten, hin und wieder jedoch auch deutliche Neigung zur Polfärbung zeigten. Besonders die Mesenterialdrüse war vollgepfropft von diesen Bakterien, während sowohl die Inguinal- wie die Halsdrüsen nur ganz vereinzelt solche aufwiesen. Im ganzen konnten ihrem Aussehen nach diese Stäbchen als nicht sehr pestähnliche bezeichnet werden. Vor allem waren trotz vielen Suchens unter den offenbar eine Reinkultur darstellenden Stäbchen nirgends die für Pest so charakteristischen Involutionsformen, Scheiben- oder Ring-

formen, zu sehen. Allerdings mußte hierbei berücksichtigt werden, daß, wie aus den noch blutenden durchschnittenen Gefäßen hervorging, das Tier unmittelbar nach dem Tode bei nur wenige Grad über Null tragender Lufttemperatur zur Sektion gekommen war, während die erwähnten Degenerationsformen nach unseren Erfahrungen, wenn sie auch schon in vivo auftreten können, besonders sich erst in Kadavern bei höheren Temperaturen zu entwickeln pflegen. Die weitere Untersuchung bestätigte noch den Verdacht auf Pest, indem die Stäbchen sich als gramnegativ und im hängenden Tropfen als gänzlich unbeweglich erwiesen. Hierbei stellte sich jedoch heraus, daß sich neben einer stark überwiegenden Mehrzahl von gramnegativen Stäbchen auch einige grampositive, kleine Bakterien befanden. Es handelte sich also um eine Mischinfektion. Zog man das Fazit aus der bisherigen Untersuchung, so mußte man zu dem Schlusse kommen, daß bei der Ratte eine Erkrankung vorgelegen habe, die den Tod des Tieres verursacht hatte, da das Trauma seiner Geringfügigkeit wegen nicht in Betracht kam. Die Erkrankung mußte nach dem ganzen Befunde eine hämorrhagische Septikämie gewesen sein, wofür die Injektion des Unterhautbindegewebes, die Blutung an der Oberfläche der Lungen, die ausgesprochene Schwellung und weiche Beschaffenheit der Leber, sowie die ungemein große Anzahl von Bakterien in den inneren Organen sprach. Besonders wichtig für die Diagnose war der hämorrhagische Charakter der Mesenterialdrüse, wie er in dieser ausgesprochenen Form fast nur bei Pest sich darbietet. Da die Unterkiefer- oder Leistendrüsen nur wenig verändert, die im Innern gefundenen Stäbchen nur in so geringer Anzahl vorhanden waren, daß ihre Herkunft aus dem Blute, nicht aus der Drüsensubstanz selber wahrscheinlich schien, andererseits die Mesenterialdrüse vollgepfropft von Bakterien war, so mußte es sich, wenn eine Pesterkrankung vorlag, um einen Fall handeln, wo der primäre Bubo seinen Sitz in einer Lymphdrüse des Mesenteriums gehabt hatte, wo also eine Darminfektion die Ursache gewesen war. Auffallend war hierbei die mangelnde Beteiligung des Darmes selbst bei der Infektion, da sich weder an der Lieblingsstelle für Darmgeschwüre bei Pest, der dem Magen benachbarten Partie des Duodenums, noch an dem ganzen übrigen Darmtraktus eine Veränderung zeigte. Im ganzen blieb besonders im Hinblick auf die nicht ganz ausgesprochene Gestalt der Stäbchen die Diagnose, soweit sie sich zu dieser Zeit überhaupt stellen ließ, noch etwas unsicher, wenn auch der ganze Befund zum mindesten als höchst verdächtig bezeichnet werden mußte. Eine wesentliche Stütze fand nun die weitere Untersuchung durch Anwendung eines Verfahrens, das von Prof. Dunbar in diesem Herbst bereits mit Erfolg bei der Choleradiagnose angewandt worden war. Dieses Verfahren wurde auch für diese Untersuchung in Anwendung gebracht, wofür die Beschaffenheit des vorliegenden Materials, nämlich die mit den verdächtigen Stäbchen dicht angefüllten Organsäfte, einen guten Erfolg versprachen. Es wurde also ein Peptontröpfchen mit dem Saft eines Organs beimpft und hierzu ein gleich großer Tropfen eines hochwirksamen Pestserums gefügt, so daß ungefähr eine Verdünnung des Serums von 1:200 zu stande kam. In ähnlicher Weise wurden Tropfen mit einem Pestserum von 1:400 und 1:800 angelegt. Als Vergleich wurde ein ebensolcher Tropfen mit Zusatz von Normalserum, sowohl von Kaninchen- wie von Pferdeserum versehen, und zwar in der Stärke von 1:100.

Schon nach wenigen Minuten war ein deutlicher Unterschied zu erkennen: die mit Normalserum versetzten Tropfen zeigten bei der Betrachtung mit Oelimmersion fast nur einzeln liegende, unbewegliche Bakterien, während der mit Pestserum im Verhältnis von 1:200 vermischte Tropfen mehr oder weniger große Verbände von aneinandergeklebten Stäbchen zeigte. Dasselbe Bild bot nach 2-stündigem Aufenthalt im Brutschrank auch der mit Pestserum 1:400 versetzte Tropfen, während der mit 1:800 angesetzte auch nach 24-stündigem Verweilen im Brutschrank keine spezifische Beeinflussung erkennen ließ. Der Ausfall dieser Untersuchung, im Verein mit den anderen als verdächtig erwähnten Befunde, rechtfertigte nunmehr die vorläufige amtliche Meldung eines Pestverdachtcs mit allen ihren Folgen für sanitäre Vorsichtsmaßregeln.

Die Hoffnung, die Diagnose nach 20 Stunden, also am 24. Dezember morgens durch Gewinnung von Reinkulturen absolut sicherstellen zu können, erfüllte sich wider Erwarten nicht. Zwar zeigten alle aus den Organen angesetzten Agarplatten ein im allgemeinen zartes Wachstum. Die mikroskopische Untersuchung lehrte jedoch, daß es sich vorwiegend um runde, gelbliche Kolonien handelte, zwischen denen nur vereinzelt noch sehr im Wachstum zurückgebliebene, äußerst zarte, wasserhelle, mit gezackten Rändern versehene Kolonien sich befanden, die wohl als pestverdächtig bezeichnet werden konnten. Die nähere Untersuchung ließ die auf Agarplatten nach 20-stündiger Bebrütung für Pest charakteristischen Kossel-Overbeckschen Schleifen vermissen, vermutlich weil die, wie das Gram-Präparat deutlich dartat, weit in der Mehrzahl befindlichen Kokken das Wachstum der Pestkolonien sehr beeinträchtigt hatten. Das Resultat der Agglutination von Pestserum mit den aus den Stellen des zarteren Wachstums entnommenen Proben schien zuerst den Pestverdacht bestätigen zu wollen, da in einer Verdünnung von 1:200 und 1:400 sehr rasch eine Körnung der Flüssigkeit eintrat, dieselbe war jedoch auch bei Verdünnungen über 1000 sichtbar, wo nach früheren Erfahrungen eine Wirkung des Serums ausgeschlossen war. Hierzu kam, daß auch bei Normalserum in höheren Verdünnungen eine Beeinflussung nachweisbar war. Es handelte sich also um eine Kultur, die nur schwer verreibbar und für die Agglutination ungeeignet war. Immerhin konnte man bei häufigen Vergleichen zwischen den einzelnen Agglutinationsröhrchen immer eine stärkere Beeinflussung bei den mit Pestserum versehenen Röhrchen feststellen. Dieselbe genügte jedoch nicht, um mit aller Bestimmtheit die amtliche Diagnose abzugeben.

Für die Natur der in der Originalratte gesehenen Bakterien gaben die angesetzten Zuckerbouillonröhrchen insofern einen Anhaltspunkt, als aus dem Fehlen einer Gasbildung in ihnen eine Coli- und Paratyphus-Art ausgeschlossen werden konnte. Dieses war von einem gewissen Wert, da sie, wie ein genaueres Studium dieser Arten im hiesigen Institut gelehrt hat, unter Umständen bei Ratten ziemlich ähnliche Krankheitsbilder wie Pest hervorrufen können.

Um jedoch eine weitere Stütze für die Diagnose zu gewinnen, wurde beschlossen, die mit 2 ccm Organsaft vor 20 Stunden geimpfte Ratte abzutöten, da nach den früheren Erfahrungen dieser Zeitraum stets genügt hatte, um bei vorliegender Pest einen wenn auch nicht bakteriell, so doch pathologisch-anatomisch durchaus genügenden Befund zu liefern. Um so überraschender war es, als nun die vorgenommene



Obduktion einen durchaus negativen Befund ergab. Das Unterhautbindegewebe war glänzend weiß, die Drüsen in der Leistenbeuge zeigten nicht die geringste Veränderung. Die inneren Organe waren ebenfalls ohne jeglichen Befund. Auch die kulturelle Untersuchung hat später keine Pestbacillen nachweisen können. Um so mehr mußte auf die Gewinnung von Reinkulturen von der Mischkultur auf den Agarplatten Bedacht genommen werden. Es wurde deshalb von möglichst mehreren Stellen der Agarplatten unter dem Mikroskope die zartest gewachsenen Kolonien abgeimpft. Ferner wurde von den hängenden Tropfen, die am Tage zuvor mit Pestserum angesetzt waren und auch am nächsten Tage noch ein gleiches Bild boten, Agarplatten ausgestrichen, endlich wurde ein Meerschweinchen kutan geimpft.

Am nächsten Morgen, also 44 Stunden nach Einlieferung der pestverdächtigen Ratte, waren jedoch auch auf allen diesen Kulturen nur Kokkenkolonien gewachsen, die früher gefundenen Stäbchen schienen entweder ganz verschwunden oder noch so weit in der Entwicklung zurück zu sein, daß sie auch mikroskopisch zwischen den üppig entwickelten Kokken nicht erkennbar waren. Die am 23. Tage angesetzten Gelatineplatten zeigten nur verflüssigende Kolonien, die zum größten Teile ineinander übergegangen waren und somit das Herausfinden von etwaigen Pestkolonien ebenfalls unmöglich machten. Wenn somit bisher der Ausfall des Tierversuches ein avirulentes<sup>1)</sup> Verhalten der Pestkeime vermuten ließ, so schien noch die letzte Hoffnung für eine Bestätigung der anfangs gestellten Diagnose geschwunden, als das an demselben Tage vormittags eingegangene, mit Organen von der eingelieferten Ratte 48 Stunden vorher in die Hauttasche geimpfte Meerschweinchen bei der Obduktion ebenfalls einen durchaus negativen Befund bot. Außer ödematös jauchiger Infiltration der Subcutis am ganzen Bauche fanden sich keine für Pest charakteristischen Veränderungen, mikroskopisch waren vereinzelte kurze Stäbchen in den verschiedenen Organen nachweisbar, irgendwelche pestbacillenähnliche waren nirgends, besonders auch nicht in den nur ganz gering geschwollenen Leistendrüsen auffindbar. Auch später ist es nicht gelungen, aus den Kulturen direkt Pestkolonien zu isolieren, da die ganzen Platten von einem schmierigen, grünlichen Bakterienbelag überzogen waren. An den Impfstrichen hoben sich von diesen mehr gelb aussehenden ca. 1 mm große Kolonien ab, die als Pestkolonien nicht in Frage kommen konnten. Erst nach 3 Tagen wurden daneben hellere Kolonien sichtbar, die nach ihrem mikroskopischen Aussehen, soweit sich durch den alles überwuchernden Bakterienrasen erkennen ließ, einige Pestähnlichkeit besaßen. Auch durch diesen Tierversuch hatte die Diagnose keine Stütze erhalten, vielmehr mußte das Fehlen von den früher so zahlreich gesehenen und durch die Impfung sicher auch in großen Mengen in den Meerschweinchenkörper eingeführten Polstäbchen die Pestnatur derselben sehr in Frage ziehen. Unter diesen Umständen schien es ratsam, das mit der nächst größten Dosis geimpfte Tier, also die mit 1 ccm Organaufschwemmung geimpfte Ratte, abzutöten, um jetzt an etwaigen leichten pathologischen Veränderungen, die vielleicht später wieder verschwinden konnten, Anhaltspunkte zu gewinnen. Die Obduktion dieser Ratte ergab nun die ersten deutlichen Beweise für die Richtigkeit des 2 Tage

1) Daß man damit zu rechnen hat, zeigt der dritte beschriebene Fall Ashmore.

vorher geäußerten Verdachtes auf Pest. Neben einer mäßig starken, aber deutlichen Injektion des subkutanen Gewebes am Bauche und einer mäßigen entzündlichen Schwellung der Leistendrüsen fand sich eine sehr große, braunrote, sehr brüchige, dicht mit nekrotischen Herden durchsetzte Leber. Auch die Milz war deutlich vergrößert, an ihrer Oberfläche ragten zahlreiche feine, graue Pünktchen hervor. Das Gesamtbild war ein so charakteristisches, für eine Pestintoxikation sprechendes, daß selbst der mangelnde (einige wenige schmale Stäbchen mit nur schwach angedeuteter Polfärbung befanden sich in Drüse und Milz) Befund an typischen Polbakterien in sämtlichen Organen und Drüsen die Diagnose nicht erschüttern konnte. Zudem ist es ein häufiges Ereignis, daß solche toxisch eingegangenen Tiere mikroskopisch Pestbakterien ganz vermissen oder erst nach langem Suchen nur vereinzelt finden lassen. Auch am Abend waren in allen früher angelegten Kulturen außer den erwähnten Kokken und vereinzelt Coli-artigen Kolonien keine makroskopisch sichtbaren pestähnlichen Kolonien zu sehen. Mikroskopisch bot sich auf allen Platten dasselbe Bild wie am Vormittag.

Auch am Morgen des 3. Tages, 68 Stunden nach der Einlieferung des verdächtigen Kadavers, zeigten die von der am vorigen Tage getöteten Ratte angesetzten Kulturen erst ein so geringes Wachstum und auch dieses nur auf der aus der Drüse angesetzten Platte, daß an eine Agglutination noch nicht zu denken war. Hingegen war das mikroskopische Bild der Kolonien und die Anordnung der Bakterien in Kossel-Overbeckscher Schleifenform im Klatschpräparat ein so charakteristisches, daß die Pestnatur der gewachsenen Kolonien mit ziemlicher Bestimmtheit vorausgesagt werden konnte. Als weitere Bestätigung kam nun die Sektion der morgens tot aufgefundenen, mit 0,5 ccm Organaufschwemmung subkutan geimpften Ratte hinzu, die einen ganz ausgesprochenen Pestbefund darbot. Aber auch hier waren in keinem der Organe typische Polbakterien sichtbar. Erst am Nachmittag des Tages war das Wachstum auf den erwähnten Platten von der Drüse ein solches geworden, daß eine makroskopische Agglutination vorgenommen werden konnte. Diese gab bei einer Serumverdünnung von 1:200 fast sofort einen positiven Ausschlag. Es konnte nunmehr, also ca. 74 Stunden nach Einlieferung der pestverdächtigen Ratten und Äußerung des Pestverdachtes, die endgültige amtliche Diagnose abgegeben werden. Auch die übrigen Versuchstiere gingen weiterhin mit Pestbefund ein.

Der beschriebene Fall zeigt, welchen Schwierigkeiten unter Umständen eine anfänglich einfach erscheinende Diagnose begegnen kann, wenn sich eine Reihe von Zufälligkeiten einstellen. Diese bestanden zuerst einmal in der starken Beimischung von andersartigen Bakterien, die unter der Menge der Pestbakterien im Originalausstrich ganz in den Hintergrund getreten waren, auf den Kulturen indessen die letzteren durch ihre bedeutend stärkere Wachstumsenergie beinahe ganz verdrängt hatten. Das zweite störende Moment bestand in dem äußerst langsamen und kümmerlichen Wachstum dieses Peststammes, der auch jetzt nach wiederholtem Umimpfen nach 48-stündiger Bebrütung auf Fleischwasseragar einen erst eben sichtbaren Belag erkennen läßt. Die dritte Störung bot endlich der negative Befund der nach 20 Stunden getöteten, mit der größten Dosis subkutan geimpften Ratte. Hierbei ist jedoch zu bemerken, daß eine nochmalige Revision der aus dieser

Ratte angesetzten Agarplatte nach 4 Tagen 3 Kolonien von sehr wenig charakteristischem Aussehen, ohne jede Andeutung eines Saumes, aufwies, die sich trotzdem bei weiterer Prüfung als Pestkolonien erwiesen.

Zum Schlusse sei nur noch erwähnt, daß keine der weiterhin aus dem betreffenden Schiffe eingelieferten Ratten, es waren 11, eine ähnliche Erkrankung aufwies. Die Wahrscheinlichkeit ist also gegeben, daß es sich um eine dem Ende nahe Epidemie gehandelt hat, wofür vielleicht auch das abweichende Verhalten des gezüchteten Peststammes spricht.

(Schluß folgt.)

### Berichtigung.

In dem Artikel von Philipp Eisenberg, Weitere Untersuchungen über den Mechanismus der Agglutination und Präzipitation (dies. Centralbl. H. 7), ist im Text auf S. 763 Z. 9 von oben zu lesen „mittlerer Stärke und nehmen auch mit der Zeit zu“. ferner muß es auf S. 765 in der Tabelle unter IV. statt „— 20 Tr. (= 1 Prom.“ heißen „— 20 Tr. (= 1 Proz.“).

---

*Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.*

---

### Inhalt.

**Beck, M.**, Zur Frage der Desinfektion von Eß- und Trinkgeschirren, p. 853.

**Bosc, F. J.**, Les maladies bryocytiques (maladies à protozoaires). IV. La Syphilis. (Forts.), p. 807.

**Byloff, Karl**, Ueber eine pestähnliche Erkrankung der Meerschweinchen. (Forts.), p. 789.

**Celli, Angelo und De Blasi, Dante**, Ueber die Aetiologie der kontagiösen Agalaktie, p. 805.

**Eisenberg, Philipp**, Weitere Untersuchungen über den Mechanismus der Agglutination und Präzipitation. (Schluß), p. 823.

**Gabritschewsky, G.**, Ueber Streptokokkenvaccine und deren Verwendung bei der Druse der Pferde und dem Scharlach des Menschen. (Schluß), p. 844.

**Hammerl, Hans**, Studien über die Morphologie des *Vibrio cholerae asiaticae*. (Forts.), p. 785.

**Hasslauer**, Der Bakteriengehalt der Nase bei den Infektionskrankheiten, mit besonderer Berücksichtigung der Meningitis cerebrospinalis epidemica. (Schluß), p. 796.

**Hoffmann, Erich und v. Prowasek, S.**, Untersuchungen über die Balanitis- und Mundspirochäten. (Schluß), p. 817.

**Kister**, Kasuistische Mitteilungen zur Frage der Rattenpestdiagnose. (Forts.), p. 858.

**Saito, S.**, Beitrag zur Kenntnis der geographischen Verbreitung des *Distomum hepaticum*, p. 822.

**Saling, Theodor**, Zur Kritik der Spirochaete pallida Schaud. (Forts.), p. 812.

Berichtigung, p. 864.

## Inhaltsverzeichnis.

### I. Verzeichnis der in Band XLI enthaltenen Arbeiten.

- Anitschkow, N. N.**, Zur Frage über die Rolle der thermophilen Bakterien im Darmkanal des Menschen. 326. 426
- Bail, Oskar und Well, Edmund**, Bemerkungen zu dem Aufsatz Citrons: Ueber natürliche und künstliche Aggressine. 536
- Bandi, Ivo und Gagnoni, Enrico**, Die Vaccination gegen Diphtherie. (Vorläufige Mitteilung.) 386. 487
- und **Simonelli, Francesco**, Zellenparasitismus in der Syphilis. 523
- Bandini, P.**, Die Wirksamkeit des Formalins und des Wasserstoffsuperoxyds in der Milch. 271. 379. 474
- Bang, J. und Forssman, J.**, Antwort auf Dr. Karl Landsteiners Bemerkungen anlässlich der vorläufigen Mitteilung über Hämolysinbildung von Bang und Forssman. 669
- Beck, M.**, Zur Frage der Desinfektion von Ess- und Trinkgeschirren. 853
- Bertarelli, E.**, „Spirochaete pallida“ und Osteochondritis. 639
- , Ueber den Durchgang der hämolytischen Ambozeptoren und der Präzipitine in die Milch der aktiv immunisierten Tiere. 767
- , Ueber die Färbung und die Gegenwart der Spirochaete Obermeyers in den Organschnitten der an Rückfallfieber verstorbenen Individuen. 492
- , Ueber die Transmission der Syphilis auf das Kaninchen. (Vorläufiger Bericht.) 320. 784
- und **Volpino, G.**, Weitere Untersuchungen über die Gegenwart der Spirochaete pallida in den Schnitten primärer, sekundärer und tertiärer Syphilis. 74
- Besser, Karl**, Versuche zur Züchtung der Choleravibrien. 286
- Blasi, Dante de und Celli, Angelo**, Ueber die Aetiologie der kontagiösen Agalaktie. 805
- Bongiovanni, Alessandro**, Die Negrischen Körper und die durch fixes Virus verursachte Wutinfektion mit langsamem Verlaufe. 343
- Bosc, F. J.**, Les maladies bryocytiques (maladies à protozoaires). 4<sup>e</sup> mémoire. La Syphilis. 729. 807
- Bourquin, J.**, Un nouveau Taenia (Davainea) chez les Prosimiens. Note préliminaire. 222
- Burger, Leo**, Beitrag zur Kenntnis des Streptococcus mucosus capsulatus. 314. 414. 511
- Byloff, Karl**, Ueber eine pestähnliche Erkrankung der Meerschweinchen. 707. 789
- Cagnetto, Giovanni**, Ueber das Verhalten des Rotzvirus im Harn und seine Ausscheidung durch die Nieren. 21. 173
- Carini, A.**, Vergleichende Untersuchungen über den Einfluß hoher Temperaturen auf die Virulenz trockener und glycerinierter Kuhpockenlymphe. 32
- Celli, Angelo** siehe **De Blasi, Dante**.
- Citron, Julius**, Ueber natürliche und künstliche Aggressine. 230
- Dieudonné**, Beiträge zur Aetiologie der Genickstarre. 418
- Doerr, R.**, Ueber die infektiösbefördernde Wirkung steriler Exsudate. 497. 593
- Drigalski, v.**, Ein Schnellfilter für Agarlösungen. 298
- Eijkman, C.**, Ueber natürliche Wachstums hemmung der Bakterien. (Zweite Mitteilung.) 367. 471
- Eisenberg, Philipp**, Weitere Untersuchungen über den Mechanismus der Agglutination und Präzipitation. (Teil I u. II.) 96. 240. 358. 459. 539. 651. 752. 823. 864
- Ellermann, v.**, Berichtigung. 303
- Erben, Franz**, Ueber aktive Immunität gegen Rhinosklerom- und Pneumobacillen. 370
- Fiehera, G.**, Zur Kenntnis der Immunisierungsverhältnisse der Choleravibrien. 576. 671. 771
- Fornet, W.** siehe **Levy, E.**
- Forssman, J.** siehe **Bang, J.**
- Friedberger, E.** siehe **Pfeiffer, R.**
- Fuhrmann, O.**, Die Hymenolepis-Arten der Vögel. 352. 440
- , Die Tänien der Raubvögel. 79. 212
- Gabritschewsky, G.**, Ueber Streptokokken-vaccine und deren Verwendung bei der Druse der Pferde und dem Scharlach des Menschen. 719. 814
- Gagnoni, Enrico** siehe **Bandi, Ivo**.
- Galli-Vallerio, Bruno**, Notes de Parasitologie. 643. 745
- Geets, V.** siehe **Leuriaux, C.**
- Ghon, A., Mucha, V. und Müller, R.**, Beiträge zur Kenntnis der anaeroben Bakterien des Menschen. IV. Zur Aetiologie der akuten Meningitis. 1. 145. 305 401. 504. 606. 689

- Goslo, B.**, Bemerkungen zu dem Aufsatz von Gloger: „*Kalium tellurosum* in der Medizin und Hygiene“. 588. 680
- Hammerl, Hans**, Studien über die Morphologie des *Vibrio cholerae asiaticae*. 611 695. 785
- Hartmann, M.** siehe **Mühlens, P.**
- Hasslauer**, Der Bakteriengehalt der Nase bei den Infektionskrankheiten, mit besonderer Berücksichtigung der Meningitis cerebrospinalis epidemica. 633. 723. 796
- Hefferan, Mary**, Agglutination and biological relationship in the prodigious group. 553
- Höyberg, H. M.**, Fütterungsversuche mit trichinösen Fäkalien. (Vorl. Mitteilung.) 210
- Hoffmann, Erich und Prowazek, S. v.**, Untersuchungen über die Balanitis- und Mundspirochäten. 741. 817
- Jansen, Hans**, Ueber die Resistenz des Tuberkulins dem Licht gegenüber. 677
- Kayser, Heinrich**, Eine Fixierungsmethode für die Darstellung von Bakterienkapseln. 138
- Kisskalt, Karl**, Kasuistische Mitteilungen. I. 701
- Klster**, Kasuistische Mitteilungen zur Frage der Rattenpestdiagnose. I. Vorbemerkungen. 780. 858
- Klaptoetz, Bruno**, Polyonchobothrium polyptery (Leydig). 527
- Klein, B.**, Notiz über den Dysenteriebacillus und das Dysenterietoxin. 201
- , Ueber die Immunisierung gegen Cholera mittels Bakterienextrakten. 118
- Klimenko, W. N.**, *Bacillus paratyphosus B e cane*. 617. 702
- Kohn, W.**, Die Bedeutung der Salzsäure als Mittel zur Desinfektion der Exkremente. 133
- Kraus, R. und Prantschoff, A.**, Ueber Cholera-vibrionen und andere Vibrionen. III. Ueber Identität der Hämotoxine und der Toxine der Vibrionen sowie deren Antitoxine. 377. 480
- Kraus, R. und Pilbram, E.**, Ueber Cholera-vibrionen und andere pathogene Vibrionen. I. Ueber die Beziehungen der Vibrionen El Tor zu dem Cholera-vibrio. 15. 155
- Kudicke**, Ein Beitrag zur Kenntnis der menschlichen Trypanosomakrankheit. 72
- Landsteiner, Karl u. Stankovic, Radenko**, Ueber die Adsorption von Eiweißkörpern und über Agglutininverbindungen. II. Mitteilung. 108
- Leuriaux, C. et Geets, V.**, Culture du *Treponema pallidum* de Schaudinn. 684
- Levy, E. und Fernet, W.**, Nahrungsmittelvergiftung und Paratyphus. 161
- Lewkowicz, Xaver**, Ueber die Reinkulturen des fusiformen Bacillus. 153
- Linstow, v.**, Neue Helminthen. 749
- Macfadyen, Allan**, Ueber die Eigenschaften eines von Ziegen gewonnenen Antityphus-serums. 266
- Manwaring, Wilfred, H.**, On the so-called complementoid of hemolytic serum. 455
- Marx, Hugo**, Zur Kritik der Marx-Ehrn-roothschen Blutdifferenzierungsmethode. 140
- Metalnikoff, S.**, Die Tuberkulose bei der Bienenmotte (*Galeria melonella*). 54. 188
- , Ein Beitrag zu der Frage über die Immunität gegen die Infektion mit Tuberkulose. 391
- Minelli, Spartaco**, Agglutinierbarkeit der Fickerschen Paratyphusdiagnostica. 583
- , Ueber „Typhusbacillenträger“ und ihr Vorkommen unter gesunden Menschen. 406
- Mucha, V.** siehe **Ghon, A.**
- Mühlens, P. und Hartmann, M.**, Zur Kenntnis des Vaccineerregers. 41. 203 338. 435
- Müller, Reiner**, Zur Aetiologie der Geflügeldiphtherie. 423. 515. 621
- siehe **Ghon, A.**
- Nedrigalloff, W. J.**, Zur Frage über die Bedeutung der Fixatoren und Stimuline im bakteriziden Serum. 89
- Negri, A. und Pane, D.**, Eine Dysenterie-epidemie in der Provinz Pavia. 70
- Ország, Oscar**, Ein einfaches Verfahren zur Färbung der Sporen. 397
- Pane, D.** siehe **Negri, A.**
- Pfeiffer, R. und Friedberger, E.**, Beitrag zur Lehre von den antagonistischen Serumfunktionen. 223
- Porges, O. und Prantschoff, A.**, Ueber die Agglutinabilität von Bakterien, besonders des *B. typhi*. 466. 546. 658
- Prantschoff, A.** siehe **Kraus, R.**
- siehe **Porges, O.**
- Pilbram, E.** siehe **Kraus, R.**
- Prowazek, S. v.** siehe **Hoffmann, Erich.**
- Rapp, Rud.**, Beitrag zur Wertbestimmung chemischer Desinfektionsmittel. 126
- Rothberger, C. Jul.**, Ueber die Regeneration der Agglutinine nach Blutverlusten. 469. 562
- Saito, S.**, Beitrag zur Kenntnis der geographischen Verbreitung des *Distomum hepaticum*. 822
- Saling, Theodor**, Zur Kritik der *Spirochaeta pallida* Schaud. 737. 812
- Sanfelice, Francesco**, Ueber die pathogene Wirkung der in die Trachea geimpften Blastomyceten. 61. 195. 332
- Schöppler, Hermann**, Eier von *Oxyuris vermicularis* L. im Wurmfortsatz. 453

- Schumacher, Gerh.**, Ueber den Streptococcus mucosus und seine Unterscheidung von anderen Streptokokkenarten. 628. 712
- Selter, Hugo**, Ueber eine durch schweine-seucheähnliche Bacillen hervorgerufene Lungenerkrankung der Kaninchen. 432
- Serkowski**, Prophylaktische Vaccination gegen die Cholera in Lodz. 255
- Shibayama, G.**, Ueber die Wirkung der bakteriologischen Heilsera bei wiederholten Injektionen. 571. 666
- Silberstrom**, Ueber die Arteinheit der Streptokokken. Vorl. Mitteilung. 409
- Slatineanu, A.**, L'endo-toxine du coccobacille de Pfeiffer. Note préliminaire. 185
- Smidt, Henry**, Ueber einen neuen, beim Gibbon gefundenen Strongylus (Strongylus ovatus v. Linstow). 646
- Soprana, F.**, Ueber im Körper latente Bakterien und die Möglichkeit ihrer Verbreitung im Organismus. Experimentelle Untersuchungen. 601
- Stanković, Radenko** siehe Landsteiner, Karl.
- Steensma, F. A.**, Ueber den Nachweis von Indol und die Bildung von Indol vortäuschenden Stoffen in Bakterienkulturen. 295
- Ströszner, Edmund**, Untersuchungen über die bakterizide Kraft des Rohlysoforms. 280
- Volpino, G.** siehe Bertarelli, E.
- Well, Edmund**, Ueber Aggressinimmunisierung von Schweinen gegen Schweineseuche. 121
- Weil, Edmund** siehe Bail, Oskar.
- Wolff-Eisner, Alfred**, Ueber einen Käfig mit automatischem Urinabfluß für mittelgroße Laboratoriumstiere. 301

## II. Namen- und Sachverzeichnis.

- Abseß, durch Bact. vulgare und B. coli verursacht. 653
- Aegialites hiaticula, Wirt von Hymenolepis rectacantha. 446
- Affe, Vorkommen von Spirochäten im Munde. 818
- Agalaktie, kontagiöse, Aetiologie. 805
- Agarlösungen, Schnellfilter. 298
- Agglutinabilität des Bacillus typhi. 466. 546. 658
- von Bakterien. 466. 546. 658. 765
- der Fickerschen Paratyphusdiagnostica. 583
- Modifikation durch besondere Züchtungsbedingungen. 663
- Agglutination zur Blutdifferenzierung. 140
- , Einfluß der Temperatur. 835
- , Hemmung durch Proagglutinoide. 358. 459. 539. 651. 752
- , Mechanismus. 96. 240. 358. 459. 539. 651. 752. 823
- in der Prodigiosus-Gruppe. 553
- Agglutinierbare Substanz, Natur und Bau. 765. 823
- Agglutinine, Natur und Bau. 100. 240
- , Regeneration nach Blutverlusten. 469. 562
- Agglutininverbindungen. 108
- Aggressive, natürliche und künstliche. 230. 536
- Aggressinfrage. 497. 593
- Aggressinimmunisierung gegen Schweineseuche. 121
- Albargin, Wertbestimmung. 130
- Ambozeptoren, hämolytische, Uebergang in die Milch aktiv immunisierter Tiere. 767
- Anomotaenia trapezoïdes n. sp. Fuhrmann bei Urubutinga zonura Kow. 212
- Antityphusserum, von Ziegen gewonnen, Eigenschaften. 266
- Argentum nitricum, Wertbestimmung. 130
- Arteinheit der Streptokokken. 409
- Ascaris, obtusocaudata Rud., Vorkommen, Beschreibung. 751
- Aspergillus flavescens, pathogene Wirkung nach endotrachealer Injektion. 69
- Asterol, Wertbestimmung. 130
- Asturina nitida Lath., Wirt von Culcitella rapacicola. 83
- Bacillenträger, Typhus-, Vorkommen unter gesunden Menschen. 406
- Bacillus acidi lactici, Wirkung auf Kalium tellurosum. 588
- Aertryck, Agglutination. 166
- alvei, Sporenfärbung. 399
- anthracis sympt., Bildung eines Indol vortäuschenden Stoffes. 297
- —, Sporen, Wirkung von Rohlysoform. 282
- —, Sporenfärbung. 399
- —, Wirkung von Salzsäure. 134
- botulinus, Ursache der Nahrungsmittelvergiftung. 161
- Breslaviensis, Agglutination. 166
- butyricus Hueppe, Sporenfärbung. 399
- cavidia, Indolbildung. 297
- cholerae gallinarum, Indolbildung. 297
- , Cocco-, Pfeiffer-, Endotoxin. 185
- denitrificans agilis, Indolbildung. 297
- diphtheriae, Verbreitung im Körper nach künstlicher Infektion. 604
- — columb., Indolbildung. 297

- Bacillus dysenteriae, Toxinbildung.** 201  
 —, Ursache der Ruhrepidemie in Pavia. 71  
 — enteritidis Gärtner, Vergleich mit *Bac. paratyphosus B e cane*. 618  
 — fusiformer, Reinkulturen. 153  
 — Gaustadt, Agglutination. 166  
 — Günther, Agglutination. 166  
 —, Hühnerdiphtherie. kulturelles Verhalten. 515. 621  
 —, Pathogenität. 623  
 —, Symbiose und Antagonismus. 621  
 —, als Ursache der Geflügeldiphtherie. 423. 515. 621  
 —, Vorkommen. 425  
 — icteroides, Verbreitung im Körper nach künstlicher Infektion. 604  
 — influenzae, Vorkommen im Eiter bei *Pyosalpinx*. 701  
 — mallei, pathogene Wirkung nach endotrachealer Injektion. 69  
 —, Resistenz im Kontakt mit Urin. 27  
 —, Verhalten im Harn. 21. 173  
 —, Vorkommen im Harn. 173  
 —, Wachstum in urinhaltigen Medien. 27  
 — megatherium, Sporenfärbung. 399  
 — mesentericus fuscus, Sporenfärbung. 399  
 — moribundus bovis, Rolle bei der Fleischvergiftung. 166  
 — oedematis maligni, Sporenfärbung. 399  
 — paratyphi B, Rolle bei der Nahrungsmittelvergiftung. 161  
 — — *B e cane*, Agglutination. 705  
 — —, Pathogenität. 619. 702  
 — —, Vergleich mit *Bac. enteritidis* Gärtner und *B. paratyphosus B Schottmüller*. 618  
 — paratyphosus B Schottmüller, Vergleich mit *Bac. paratyphosus B e cane*. 618  
 — phlegmonis emphysematodis, Sporenfärbung. 399  
 — prodigiosus, Agglutination. 553  
 —, Bildung eines Indol vortäuschenden Stoffes. 297  
 —, Verbreitung im Körper nach künstlicher Infektion. 603  
 — pseudodiphtheriae, Bildung eines Indol vortäuschenden Stoffes. 297  
 — psittacosis, Agglutination. 166  
 — pyocyaneus, Verbreitung im Körper nach künstlicher Infektion. 603  
 —, Wirkung von Salzsäure. 134  
 — Rabinowitsch, säurefest, Verhalten in *Galeria melonella*. 193  
**Bacillen, Rhinosklerom- und Pneumo-, aktive Immunität.** 370  
**Bacillus ruber balticus, Bildung eines Indol vortäuschenden Stoffes.** 297  
 — subtilis, Sporenfärbung. 399  
 —, Vorkommen in der Nase bei Infektionskrankheiten. 635  
 — stupefiter, Agglutination. 166  
 — tetani, Sporenfärbung. 399  
 — tuberculosis, pathogene Wirkung nach endotrachealer Injektion. 69  
 —, Verhalten in *Galeria melonella*. 54  
 188. 391
- Bacillus tuberculosis, Wirkung des Lichtes.** 677. 755  
 —, Wirkung von Salzsäure. 136  
 — — *avium*, Wirkung auf Kalium tellurosum. 588  
 — — *hominis*, Wirkung auf Kalium tellurosum. 588  
 — typhi, Agglutinabilität. 466. 546. 658  
 —, Rolle bei der Fleischvergiftung. 163  
 —, Vorkommen in der Galle. 701  
 —, Vorkommen bei gesunden Menschen. 406  
 —, Wirkung von Rohlysoform. 282  
 — — *murium*, Agglutination. 166  
 — Welch-Fraenkel, Erreger der Meningitis. 1  
 —, Vorkommen bei einer pestähnlichen Erkrankung der Meerschweinchen. 701  
 789
- Bacterium coli, Indolbildung.** 297  
 —, natürliche Wachstumshemmung. 367. 471  
 —, Ursache von Abscessen. 643  
 —, Ursache einer Infektion mit Dysenterietypus. 644  
 —, Wirkung von Rohlysoform. 282  
 — — vulgare, Ursache von Abscessen. 643
- Bakterien, Agglutinabilität.** 466. 546. 658.  
 765. 823  
 —, Aggressinbildung. 230. 536  
 —, anaerobe, Erreger der Meningitis. 3.  
 145. 305. 401. 504. 606. 689  
 —, —, Untersuchungen. 1. 145. 305. 401.  
 504. 606. 689  
 —, Inagglutinabilität. 550. 658  
 —, Indolbildung. 295  
 —, Kapseln, Fixierungsmethode. 138  
 —, latente, im Körper und die Möglichkeit ihrer Verbreitung. 601  
 —, natürliche Wachstumshemmung. 367. 471  
 —, Reduktion von Kalium tellurosum. 588  
 689  
 —, Rolle bei der Nahrungsmittelvergiftung. 161  
 —, schweineischeähnliche, Ursache einer Lungenerkrankung bei Kaninchen. 432  
 —, thermophile, Rolle im Darmkanal des Menschen. 326. 426  
 —, —, Vorkommen in den Faeces. 326. 426  
 —, Vorkommen bei akuter Meningitis. 6.  
 145. 305. 401. 504. 606. 689  
 —, Vorkommen in der Nase. 634  
 —, Vorkommen in der Nase bei Infektionskrankheiten und Meningitis cerebrospinalis epidem. 623. 723. 796  
 —, Vorkommen bei Rhinitis acuta. 635
- Bakterienextrakte, Immunisierung gegen Cholera.** 118  
**Balanitis, durch Spirochäten verursacht.** 741. 817
- Bienenmotte s. *Galeria melonella*.**  
**Blastomyceen, pathogene Wirkung nach endotrachealer Injektion.** 61. 195. 332  
**Blutdifferenzierungsmethode von Marx-Ehrnrooth.** 140  
**Blutverluste, Regeneration der Agglutinine nach denselben.** 469. 562

- Borsäure, Wertbestimmung. 130  
*Busarellus nigricollis* (Lath.), Wirt von  
   *Dilepis oligorchida*. 215  
*Butorides virescens*, Wirt von *Hymenolepis ardeae*. 451  
*Cairina moschata* (L.), Wirt von *Hymenolepis papillata*. 357  
*Callipepla squamata*, Wirt von *Heterakis cordata*. 749  
*Canis familiaris*, Wirt von *Cloacina octodactyla*. 750  
*Caprimulgus carolinensis*, Wirt von *Hymenolepis brasiliense*. 446  
 — *lineatus*, Wirt von *Drepanidotaenia caprimulgorum*. 441  
*Cathartes papa*, Wirt von *Laterotaenia natterii*. 87  
*Chanelasmus streperus*, Wirt von *Hymenolepis teresoides*. 443  
*Chapmania longicirrhosa* s. *Davainea longicirrhosa*. 81  
 Chinidin, Wertbestimmung. 131  
 Chininum sulfuricum, Wertbestimmung. 130  
 Chinoidin, Wertbestimmung. 131  
 Chinolin, Wertbestimmung. 131  
 Cholera, Immunisierung mittels Bakterienextrakte. 118  
 —, Vaccination, prophylaktische. 255  
*Cholera vibrio* s. *a. Vibrio cholerae*.  
*Cholera vibriationes*, Immunisierungsverhältnisse. 576. 671. 771  
*Cistuda ornata*, Wirt von *Proleptus tortus*. 750  
*Cloacina octodactyla* n. sp. v. Linstow, Vorkommen, Beschreibung. 750  
*Coccidium hominis*, Kultur. 745  
*Coccobacillus Pfeiffer*, Endotoxin. 185  
*Columbia gymnophthalma* Temm., Wirt von *Hymenolepis armata* n. sp. 353  
 Complementoid, Wirkung im hämolytischen Serum. 455  
*Crypturus erythropus*, Wirt von *Hymenolepis pauciovata*. 447  
*Culcitella crassa* n. g. n. sp. Fuhrmann bei *Spizaetus* Daud. 85  
*Culcitella rapacicola* n. g. n. sp. Fuhrmann bei *Ictinia*, *Geranospizias*, *Asturina*. 83  
*Cytorhycles variolae* (vaccinae) s. *Vaccine*-*erreger*. 41  
*Cytorhycles* s. *Cytorhycles*.  
 Darmkanal, Rolle der thermophilen Bakterien. 326. 426  
*Davainea lateralis* n. sp. Bourquin bei *Galeopithecus volans*. 222  
 — (*Chapmania*) *longicirrhosa* n. sp. Fuhrmann bei *Milvus korschun*. 81  
 Desinfektion von Eß- und Trinkgeschirr. 853  
 — der Exkremente mit Salzsäure. 133  
 — mittels Rohlysoform. 280  
 Desinfektionsmittel, chemische, Wertbestimmung. 126  
 Diagnostica, *Paratyphus*-, Agglutinierbarkeit. 583  
*Diaphtherin*, Wertbestimmung. 130  
*Didelphys dorsigera*, Wirt von *Heterakis paradoxa*. 750  
*Dilepis oligorchida* n. sp. Fuhrmann bei *Busarellus nigricollis*. 215  
 Diphtherie, Bakteriengehalt der Nase. 638  
 —, Geflügel-, Aetiologie. 423. 515. 621  
 —, Vaccination. 396. 487  
*Diphtherie bacillus*, Hühner-, s. *Bacillus*, Hühnerdiphtherie-. 423  
*Diplococcus intracellularis meningitidis* Weichselbaum, Erreger der akuten Meningitis. 1  
 — *pneumoniae*, Erreger der akuten Meningitis. 1  
 Diplokokken, Vorkommen in der Nase. 634  
 —, Vorkommen in der Nase bei Infektionskrankheiten. 635  
 Diplostreptokokken, Vorkommen in der Nase bei Infektionskrankheiten. 635  
*Dipylidium avicola* n. sp. Fuhrmann bei *Gyps Kolbi*. 219  
*Distomum hepaticum*, geographische Verbreitung. 822  
*Drepanidotaenia caprimulgorum* n. sp. Fuhrmann bei *Nyctiprogne rupestris*, *Podager nacunda* von *Caprimulgus lineatus*. 441  
 Dysenterieepidemie in Pavia. 70  
 Dysenterietoxin, Bildung. 201  
 Eiter, Vorkommen von Influenzabacillen 701  
 Eiweißkörper, Adsorption. 108  
*Elanoides furcatus* (L.), Wirt von *Oligorchis strangulatus*. 217  
 Endotoxin des *Coccobacillus Pfeiffer*. 185  
*Erinaceus europaeus*, Wirt von *Irichosoma tenue* Duj. 746  
*Erysipelas faciei*, Bakteriengehalt der Nase. 637  
 Eßgeschirr, Desinfektion. 853  
 Euchinin, Wertbestimmung. 131  
 Exkremente, Desinfektion mit Salzsäure. 133  
 Exsudate, sterile, infektionsbefördernde Wirkung. 497. 593  
 Faeces, Vorkommen von thermophilen Bakterien. 326. 426  
 Fäkalien, trichinöse, Fütterungsversuche. 210  
 Färbung von Sporen, Methode. 397  
*Febris recurrens*, Färbung und Gegenwart der *Spirochaete Obermeyer*i in den Organen. 492  
 Fermente der Milch, Wirkung von Formalin und Wasserstoffsuperoxyd. 276. 379. 474  
 Fibrin, Adsorption von Eiweiß. 110  
 Filter, Schnell-, für Agarlösungen. 298  
 Fixatoren, Bedeutung im bakteriziden Serum. 89  
 Fixierungsmethode von Bakterienkapseln. 138  
 Formaldehyd, Wertbestimmung. 130  
 Formalin, Wirksamkeit in der Milch. 271  
 379. 474



Formalin, Wirkung auf Labferment. 273  
 —, Wirkung auf die löslichen Fermente  
 der Milch. 276. 379. 474

Galeopithecus volans, Wirt von Davainea  
 lateralis. 222

Galeria melonella, Tuberkulose. 54. 188. 391

Galle, Vorkommen von Typhusbacillen. 701

Geflügeldiphtherie, Aetiologie. 423. 515. 621

Genickstarre s. Meningitis cerebrospinalis.

Geranospizias caerulescens Vieill., Wirt von  
 Culcitella rapacicola. 83

Geschirr, Eß- und Trink-, Desinfektion. 853

Gibbon, Wirt von Strongylus ovatus  
 v. Linstow. 646

Gymnostinops yuracarium, Wirt von  
 Hymenolepis pellucida. 440

Gyps Kolbi (Daud.), Wirt von Dipylidium  
 avicola. 219

Hämolysebildung. 669

Harn, Untersuchung auf Rotzbacillen. 173  
 —, Verhalten der Rotzbacillen. 21. 173

Helminthen, neue. 749

Heterakis cordata n. sp. v. Linstow, Vor-  
 kommen, Beschreibung. 749  
 — paradoxa n. sp. v. Linstow, Vorkommen,  
 Beschreibung. 750

Hühnerdiphtheriebacillus s. Bacillus,  
 Hühnerdiphtherie-. 423

Hydrargyrum oxycyanatum, Wertbestim-  
 mung. 130

Hymenolepis-Arten der Vögel. 352. 440  
 — ardeae n. sp. Fuhrmann bei Butorides  
 virescens. 451  
 — armata n. sp. Fuhrmann bei Columba  
 gymnopterna Temm. 353  
 — bisaccata n. sp. Fuhrmann bei Nettion  
 brasiliense. 444  
 — brasiliense n. sp. Fuhrmann bei Nycti-  
 progne leucopygia, Caprimulgus caroli-  
 nensis. 446  
 — breviannulata n. sp. Fuhrmann bei  
 Molybdophanes coerulescens. 445  
 — capillaroides n. sp. Fuhrmann bei Podi-  
 ceps dominicus (L.). 355  
 — elongata n. sp. Fuhrmann bei Molyb-  
 dophanes coerulescens. 450  
 — flagellata n. sp. Fuhrmann bei Poecilo-  
 netta bahamensis Catesby. 356  
 — lobata n. sp. Fuhrmann bei Poecilonetta  
 bahamensis Catesby. 352  
 — papillata n. sp. Fuhrmann bei Cairina  
 moschata (L.). 357  
 — pauciovata n. sp. Fuhrmann bei Crypt-  
 urus erythropus. 447  
 — pellucida n. sp. Fuhrmann bei Ostiops  
 decumanus, Ostiops viridis, Gymnosti-  
 nops yuracarium. 440  
 — rectacantha n. sp. Fuhrmann bei Aegia-  
 lites hiaticula. 446  
 — serrata n. sp. Fuhrmann bei Turtur  
 turtur. 448  
 — sphenoccephala Rud., Anatomie. 449  
 — stylodes n. sp. Fuhrmann bei Vanellus  
 aegypticus. 354

Hymenolepis teresoides n. sp. Fuhrmann  
 bei Chanlelasmus streperus. 443  
 — uncinata n. sp. Fuhrmann bei Rupicola  
 crocea Vieill. 441

Ichthargan, Wertbestimmung. 130

Ictinia palumbea Gm., Wirt von Culcitella  
 rapacicola. 83

Immunisierungsverhältnisse der Cholera-  
 vibrionen. 576. 671. 771

Immunität, aktive, gegen Rhinosklerom-  
 und Pneumobacillen. 370  
 —, Dauer bei wiederholten Injektionen von  
 Heilserum. 571. 666  
 — gegen Tuberkulose. 391

Inagglutinabilität der Bakterien. 550. 658

Indol, Nachweis und Bildung in Bakterien-  
 kulturen. 295

Infektion, Beförderung durch sterile Ex-  
 sudate. 497. 593

Infektionskrankheiten, Bakteriengehalt der  
 Nase. 633. 723. 796

Influenza, Bakteriengehalt der Nase. 636

Influenzabacillen, Vorkommen im Eiter bei  
 Pyosalpinx. 701

Käfig mit automatischem Urinabfluß. 301

Kalium tellurosum, Reduktion durch Bak-  
 terien. 588. 680

Kapsel von Bakterien, Fixierungsmethode.  
 158

Kasein, Adsorption von Eiweiß. 110

Körperchen, Guarnierische s. a. Vaccine-  
 erregers.  
 —, Negrische, Vorkommen bei durch Virus  
 fixe verursachter Wut. 343

Kollargol, Wertbestimmung. 130

Krankheiten, bryocytische. 729. 897

Kresol, Wertbestimmung. 131

Kuhpockenlymphe, Einfluß hoher Tem-  
 peraturen auf deren Virulenz. 32

Kultur, Rein-, des fusiformen Bacillus. 153

Labferment, Wirkung von Formalin und  
 Wasserstoffsperoxyd. 273

Laterotaenia natterii n. g. n. sp. Fuhrmann  
 bei Cathartes papa (L.). 87

Licht, Wirkung auf Tuberkulin. 677. 755

Lungenerkrankung bei Kaninchen, durch  
 schweineeuchäenähnliche Bakterien ver-  
 ursacht. 432

Iygochinin, Wertbestimmung. 131

Lympe s. a. Kuhpockenlymphe.

Lysoform, Roh-, bakterizide Kraft. 280  
 —, Wertbestimmung. 130

Lysol, Wertbestimmung. 130

Lyssa s. a. Wut.

Meerschweinchen, pestähnliche Erkrankung.  
 707. 789

Meningitis, akute, Aetiologie. 1. 145. 307  
 401. 504. 606. 689  
 — —, bakteriologischer Befund des Ge-  
 hirnsudates. 5  
 — cerebrospinalis, Aetiologie. 418  
 — — epidemica, Bakteriengehalt der Nase.  
 723. 796

- Meningococcus s. Micrococcus intracellularis meningitidis.**  
 —, Vorkommen bei Schnupfen. 702  
**Micrococcus catarrhalis (R. Pfeiffer),** Vorkommen im Nasensekret. 421  
 — — —, Vorkommen in der Nase bei Meningitis cerebrospinalis. 728  
 — — —, Vorkommen bei Rhinitis acuta. 635  
 — intracellularis meningitidis, Ursache der Meningitis cerebrospinalis. 418  
 — — —, Vorkommen in der Nase bei Meningitis cerebrospinalis. 723. 796  
 — meningitidis cerebrospinalis, Erreger der akuten Meningitis. 1  
**Milch** aktiv immunisierter Tiere, Uebergang von hämolytischen Ambozeptoren und Präzipitinen. 767  
 —, Wirksamkeit des Formalins und des Wasserstoffsuperoxyds. 271. 379. 474  
**Milvus aegypticus (Gm.),** Wirt von *Taenia heteracantha*. 220  
 — *korschun (Gm.)*, Wirt von *Davainea longicirrhosa*. 81  
**Molybdophanes coerulescens,** Wirt von *Hymenolepis breviannullata*. 445  
 — — —, Wirt von *Hymenolepis elongata*. 450  
**Mund,** Vorkommen von Spirochäten. 818  
**Nahrungsmittelvergiftung,** Beziehung zum Paratyphus. 161  
 —, Rolle der Bakterien. 161  
**Nase,** Bakteriengehalt. 634  
 —, Bakteriengehalt bei Infektionskrankheiten. 633  
 —, Bakteriengehalt bei Meningitis cerebrospin. epidem. 723. 796  
**Negrische Körperchen s. Körperchen, Negrische.**  
**Nettion brasiliense,** Wirt von *Hymenolepis bisaccata*. 444  
**Nyctiprogne leucopygia,** Wirt von *Hymenolepis brasiliense*. 446  
 — *rupestris,* Wirt von *Drepanidotaenia caprimulgorum*. 441  
**Oidium albicans,** pathogene Wirkung nach endotrachealer Injektion. 70  
**Oligorchis strangulatus n. g. n. sp. Fuhrmann** bei *Elanoides furcatus*. 217  
**Osteochondritis syphilitica,** Vorkommen von *Spirochaete pallida*. 639  
**Ostinops decumanus,** Wirt von *Hymenolepis pellucida*. 440  
 — *viridis,* Wirt von *Hymenolepis pellucida*. 440  
**Oxyuris vermicularis L.,** Eier im Wurmfortsatz eines Kindes. 453  
**Parasiten, pflanzliche.** 643  
 —, tierische. 745  
**Parasitismus, Zellen-, bei Syphilis.** 523  
**Paratyphus,** Beziehung zu Nahrungsmittelvergiftungen. 161  
 — *diagnostica, Fickersche, Agglutininbarkeit.* 583  
**Paruterina angustata n. g. n. sp. Fuhrmann** bei *Scops brasilianus*. 213  
**Pest-, Ratten-, Diagnose.** 780. 858  
**Pestähnliche Erkrankung bei Meerschweinchen.** 701. 789  
**Phenol, Wertbestimmung.** 130  
**Pneumobacillen, aktive Immunität.** 370  
**Pneumobacillus Friedländer, Verbreitung im Körper nach künstlicher Infektion.** 603  
**Pneumococcus, Unterscheidung von dem Streptococcus mucos.** 713  
 —, Ursache der Meningitis cerebrospinalis. 418  
**Pneumonie, Bakteriengehalt der Nase.** 636  
**Podager nacunda, Wirt von Drepanidotaenia caprimulgorum.** 441  
**Podiceps dominicus (L.), Wirt von Hymenolepis capillaroides.** 355  
**Poecilometes bahamensis Catesby, Wirt von Hymenolepis flagellata.** 356  
 — — —, Wirt von *Hymenolepis lobata* n. sp. 352  
**Polyarthritus acuta, Bakteriengehalt der Nase.** 638  
**Polyonchobothrium polypteri (Leydig), Anatomie.** 527  
**Präzipitation, Mechanismus.** 96. 240. 358. 459. 539. 651. 752. 823  
**Präzipitine, Uebergang in die Milch aktiv immunisierter Tiere.** 767  
**Proleptus tortus n. sp. v. Linstow, Vorkommen, Beschreibung.** 750  
**Prosimia, Wirte von Tänien.** 222  
**Protargol, Wertbestimmung.** 130  
**Proteus, Rolle bei der Nahrungsmittelvergiftung.** 161  
 — *vulgaris, Indolbildung.* 297  
**Protozoen, Ursache von Krankheiten.** 729. 807  
**Pyosalpinx, Vorkommen von Influenzabacillen.** 701  
**Radium, Wirkung bei Infektion mit fixem Wutvirus.** 346  
**Rattenpest, Diagnose.** 780. 858  
**Raubvögel, Vorkommen von Tänien.** 79. 212  
**Reduktion von Kalium tellurosum durch Bakterien.** 588. 680  
**Rhinitis acuta, Bakteriengehalt der Nase.** 635  
 — *chronica, Bakteriengehalt der Nase.* 636  
**Rhinosklerom, Isolierung eines Mikroorganismus.** 645  
**Rhinosklerombacillen, aktive Immunität.** 370  
**Rohlysoform, bakterizide Kraft.** 280  
**Rotz s. a. Bacillus mallei.**  
**Rotzbacillen s. Bacillus mallei.**  
**Rückfallfieber s. Febris recurrens.**  
**Ruhr s. a. Dysenterie.**  
**Rupicola crocea Vieill., Wirt von Hymenolepis uncinata.** 441  
**Saccharomyces canis, pathogene Wirkung bei Kaninchen.** 66. 195. 332

- Saccharomyces canis*, pathogene Wirkung bei Meerschweinchen. 62. 195. 332  
 — *neoformans*, pathogene Wirkung. 62  
*Salochinin*, Wertbestimmung. 131  
*Salzsäure* zur Desinfektion der Exkremente. 133  
*Sarcina*, Verbreitung im Körper nach künstlicher Infektion. 603  
 Scharlach, Bakteriengehalt der Nase. 637  
 Schweine, Aggressinimmunisierung gegen Schweineseuche. 121  
 —, Aggressinimmunisierung. 121  
 Schweineseucheähnliche Bakterien, Ursache einer Lungenerkrankung bei Kaninchen. 432  
*Scops brasiliensis* Gm., Wirt von *Paruterina angustata*. 213  
 Seide, Adsorption von Eiweiß. 110  
 Septoform, Wertbestimmung. 130  
 Serum, antagonistische Funktionen. 223  
 —, Antityphus, von Ziegen gewonnen, Eigenschaften. 266  
 —, bakterizides, Bedeutung der Fixatoren und Stimuline. 89  
 —, hämolytisches, Wirkung des „Complementoids“. 455  
 —, Heil-, Wirkung bei wiederholten Injektionen. 571. 666  
*Spirillum cholerae asiaticae* siehe *Vibrio cholerae asiaticae*.  
 — *Metschnikoff*, Indolbildung. 297  
*Spirochaete balanitidis* n. sp., Untersuchungen. 741. 817  
 — *buccalis*, Vorkommen im Munde. 819  
 — *dentium*, Vorkommen im Munde. 819  
 — *microgyrata*, Vorkommen im Munde. 819  
 — *Obermeyer*, Färbung und Gegenwart bei *Febris recurrens*. 492  
 — *pallida* Schaudinn, Kritik. 737. 812  
 —, Nachweis bei Ueberimpfungen von Syphilis auf das Auge. 322  
 —, Vorkommen im Gumma. 78  
 —, Vorkommen in Initialsyphilomen. 76  
 —, Vorkommen bei Osteochondritis syphilitica. 639  
 —, Vorkommen in Schleimhautpapeln. 77  
 —, Zellparasitismus bei Syphilis. 523  
 Spirochäten, Vorkommen im Munde bei Menschen und Affen. 818  
*Spizäctus ornatus* Daud., Wirt von *Culicella crassa*. 85  
 Sporen, Färbung. 397  
 Sputum, Desinfektion mit Salzsäure. 136  
*Staphylococcus pyogenes albus*, Vorkommen in der Nase. 634  
 — —, Wirkung von Rohlysoform. 282  
 — — *aureus*, Vorkommen in der Nase. 634  
 — — — zur Wertbestimmung chemischer Desinfektionsmittel. 126  
 — — *citreus*, Vorkommen in der Nase bei Meningitis cerebros spinalis. 723  
 Staphylokokken, Vorkommen in der Nase bei Infektionskrankheiten. 635  
 Stimuline, Bedeutung im bakteriziden Serum. 89  
*Streptococcus conglomeratus*, Ursache des Scharlachs. 848  
 — *erysipelatos* s. *Streptococcus pyogenes*. 410  
 — — s. *longus*, Unterscheidung vom *Streptococcus mucosus*. 714  
 — *lanceolatus*, Unterscheidung vom *Streptococcus mucosus*. 714  
 — *longus* s. *Streptococcus erysipelatos*. 714  
 — *mitior* s. a. *Streptococcus viridans*. 714  
 — —, Klassifikation. 410  
 — *mucosus*, Klassifikation. 410  
 — —, Kultur. 631. 712  
 — —, Morphologie. 630  
 — —, Pathogenität. 713  
 — —, Unterscheidung von anderen Streptokokkenarten. 628. 712  
 — —, Vorkommen. 629  
 — —, Vorkommen im Nasensekret. 421  
 — — *capsulatus*, Diagnose. 511  
 — — —, kulturelle Eigenschaften. 415. 511  
 — — —, Morphologie. 319. 414  
 — — Schottmüller als Ursache der Meningitis cerebros spinalis. 727  
 — *pyogenes*, Klassifikation. 410  
 — *viridans* s. a. *Streptococcus mitior*. 410  
 — — s. *mitior*, Unterscheidung vom *Streptococcus mucosus*. 714  
 Streptokokken, Arteinheit. 409  
 —, Vorkommen in der Nase. 634  
 —, Vorkommen in der Nase bei Infektionskrankheiten. 635  
*Streptokokken vaccine* s. *Vaccine*, Streptokokken-. 719. 844  
*Streptothrix alba*, pathogene Wirkung nach endotrachealer Injektion. 69  
 — *violacea*, pathogene Wirkung nach endotrachealer Injektion. 69  
*Strongylus ovatus* v. Linstow n. sp. Smidt, Anatomie. 648  
 — — — —, Vorkommen beim Gibbon. 646  
 Sublamin, Wertbestimmung. 130  
 Sublimat, Wertbestimmung. 130  
 Substanz, agglutinierbare, Natur und Bau. 765. 823  
 Syphilis, Kritik der *Spirochaete pallida*. 737. 812  
 Syphilis, Symptomatologie. 729. 807  
 —, Uebertragung auf Kaninchen. 320. 784  
 —, Vorkommen von *Spirochaete pallida* bei Osteochondritis. 639  
 —, Zellenparasitismus. 523  
*Taenia heteracantha* n. sp. Fuhrmann bei *Milvus aegypticus*. 220  
 Täten. 222  
 — der Raubvögel. 79. 212  
 Temperatur, Einfluß auf den Agglutinationsvorgang. 835  
 —, Einfluß auf die Virulenz von Kuhpockenlymphe. 32  
 Toxin, Antidototypus-, Erzeugung. 266  
 —, Dysenterie-, Bildung. 201

- Toxin, Endo-, des *Coccobacillus* Pfeiffer. 185
- Treponema pallidum* Schaudinn, Beobachtungen. 745
- — —, Kultur. 684
- Trichinöse Fäkalien, Fütterungsversuche. 210
- Trichinose beim Menschen. 747
- Trichosoma tenue* Duj., Vorkommen in der Leber bei *Erinaceus europaeus*. 746
- Trinkgeschirr, Desinfektion. 853
- Trutta fario*, Wirt von *Ascaris obtusicaudata*. 751
- Trypanosomakrankheit beim Menschen. 72
- Tuberkulin, Resistenz dem Licht gegenüber. 677. 755
- Tuberkulose bei *Galeria melonella*. 54. 188. 391
- , Immunität. 391
- Tuberkulosewachs, Auflösung im Körper. 395
- Turtur turtur*, Wirt von *Hymenolepis serrata*. 448
- Typhus abdominalis, Bakteriengehalt der Nase. 637
- Typhusbacillenträger, Vorkommen unter gesunden Menschen. 406
- Typhusserum, Anti-, von Ziegen gewonnen, Eigenschaften. 266
- Uncinaria duodenalis* Dubini, Durchdringung der Haut. 748
- Urobatinga zonura* Kow., Wirt von *Anomotaenia trapezoides*. 212
- Vaccination gegen Diphtherie. 386. 487
- , prophylaktische, gegen Cholera. 255
- Vaccine, Streptokokken-, Herstellung. 721. 851
- —, Verwendung bei der Drüse der Pferde. 720. 844
- —, Verwendung beim Scharlach. 848
- Vaccineerreger, Material und Untersuchungsmethoden. 50
- , Morphologie. 204. 338. 435
- , Untersuchungen. 41. 203. 338. 435
- Vanellus aegypticus*, Wirt von *Hymenolepis styloides*. 354
- Vergiftung durch Nahrungsmittel, Rolle der Bakterien. 161
- Vibrio cholerae asiaticae*, Beziehungen zum *Vibrio* El Tor. 15. 155
- — —, Morphologie. 611. 695. 785
- — —, Untersuchungen. 15. 155. 377. 480
- — —, Verbreitung im Körper nach künstlicher Infektion. 604
- — —, Verhalten zu agglutinierendem Vibrienserum. 17
- — —, Wirkung von Rohlysoform. 282
- — —, Wirkung von Salzsäure. 134
- — —, Züchtung. 286
- El Tor, Beziehungen zum Choleravibrio. 15. 155
- —, Gewinnung von Antihämotoxin. 155
- —, hämotoxisches Vermögen. 19
- —, Toxin. 20
- —, Verhalten zu agglutinierendem Choleraserum. 17
- Nasik, Gewinnung von Antihämotoxin. 155
- Vibrionen, Cholera-, Immunisierungsverhältnisse. 576. 671. 771
- , Identität ihrer Hämotoxine, Toxine und Antitoxine. 377. 480
- , pathogene, Untersuchungen. 15. 155. 377. 480
- Virulenz der Kuhpockenlymphe, Einfluß hoher Temperaturen. 32
- Vögel, Wirte von *Hymenolepis*-Arten. 352. 440
- Wachs, Tuberkulose-, Auflösung im Körper. 395
- Wachschabe s. *Galeria melonella*.
- Wachstumshemmung bei Bakterien. 376. 471
- Wasserstoffsuperoxyd, Wirksamkeit in der Milch. 271. 379. 474
- , Wirkung auf Labferment. 273
- , Wirkung auf die löslichen Fermente der Milch. 276. 379. 474
- Wurmfortsatz, Vorkommen von Eiern von *Oxyuris vermicularis*. 453
- Wut, durch Virus fixe verursacht, Vorkommen Negrischer Körper. 343
- Zellenparasitismus bei Syphilis. 523
- Züchtung von *Vibrio cholerae asiaticae*. 286

### III. Verzeichnis der Abbildungen.

- Anomotaenia trapezoides* n. sp., Haken des Rostellums. 212
- —, Totalpräparat. 212
- Ascaris obtusicaudata* n. sp., Dorsallippe (Taf., Fig. 6). 752
- Bacillus*, anaërober, Strichkultur in Traubenzuckeragar. 3. 149. 311. 504
- —, Traubenzuckeragarkultur. (Taf. I u. II). 694
- Bacillus*, fusiformer, Belag von Stomatitis ulcerosa. (Taf., Fig. 1.) 155
- —, Kolonien. (Taf., Fig. 9—14.) 155
- —, aus Reinkulturen. (Taf., Fig. 2—8.) 155
- *hastilis*, Form. 746
- *tuberculosis*, Kapsel zur Belichtung. 776
- Bakterien, anaërobe, Vorkommen bei akuter Meningitis. (Taf. I u. II.) 694

<i>Cloacina octodactyla</i> n. sp., Schwanzende. (Taf., Fig. 3—4.)	752	<i>Hymenolepis pellucida</i> , Totalpräparat.	440
<i>Culcitella crassa</i> n. sp., Skolex.	86	— <i>rectacantha</i> n. sp., Haken des Rostellums.	447
— —, Totalpräparat.	86	— <i>serrata</i> n. sp., Cirrusbeutel, verdoppelt.	448
— <i>rapacicola</i> n. g. n. sp., Längswassergefäße.	84	— —, Totalpräparat.	448
— —, Skolex.	84	— <i>sphenocephala</i> Rud., Querschnitt.	449
— —, Totalpräparat.	84	— — —, Totalpräparat.	449
— —, Vagina und Receptaculum seminis.	84	— <i>styloides</i> n. sp., Cirrusbeutel.	355
<i>Davainea longicirrhosa</i> n. sp., Haken des Rostellums.	81	— —, Haken des Rostellums.	355
— —, Proglottis.	81	— —, Receptaculum seminis.	355
<i>Dilepis oligorchida</i> n. sp., Haken des Rostellums.	216	— <i>teresoides</i> n. sp., Horizontalschnitt.	443
— —, Proglottis.	216	— <i>uncinata</i> n. sp., Haken des Rostellums.	441
— —, Querschnitt.	216	— —, Totalpräparat.	441
<i>Dipylidium avicola</i> n. sp., Haken des Rostellums.	219	<b>Käfig mit automatischem Urinabfluß.</b>	302
<i>Drepanidotaenia caprimulgorum</i> n. sp., Ei.	442	<i>Laterotaenia natteri</i> n. g. n. sp., Querschnitt.	88
— —, Hoden.	442	— —, Skolex.	88
— —, Querschnitt.	442	— —, Totalpräparat.	88
<b>Filter, Schnell-, für Agarlösungen.</b>	300	<b>Lunge eines Kaninchens nach endotrachealer Impfung mit <i>Saccharomyces canis</i>.</b> (Taf., Fig. 1, 2, 4, 5, 6.)	338
<i>Galeria melonella</i> , Falter, Pericardialzellen, Tuberkulose. (Taf., Fig. 12.)	195	— eines Meerschweinchens nach endovenöser Impfung mit <i>Saccharomyces canis</i> . (Taf., Fig. 3.)	338
— —, Raupe, Bildung von Kapseln, Tuberkulose. (Taf., Fig. 7—9.)	195	<b>Lymph-, Kuhpocken-, Wirkung hoher Temperaturen auf die Virulenz.</b>	35. 39. 40
— — —, Bildung von Plasmodien, Tuberkulose. (Taf., Fig. 5, 6.)	195	<i>Oligorchis strangulatus</i> n. g. n. sp., Haken des Rostellums.	217
— — —, Blutkörperchen mit Tuberkelbacillen. (Taf., Fig. 1, 2, 4, 13. 14.)	195	— —, Querschnitt.	217
— — — nach Injektion von Tuberkelbacillen. (Taf., Fig. 3.)	195	— —, Skolex.	217
— — —, Zerfall von Tuberkelbacillen. (Taf., Fig. 10—11.)	195	— —, Totalpräparat.	217
<i>Heterakis cordata</i> n. sp., Schwanzende, männliches. (Taf., Fig. 1.)	752	<i>Oxyuris vermicularis</i> L., Eier.	453
— <i>paradoxa</i> , n. sp., Schwanzende, männliches. (Taf., Fig. 2.)	752	<i>Paruterina angustata</i> n. g. n. sp., Flächenschnitt.	214
<i>Hymenolepis ardeae</i> n. sp., Flächenschnitt.	451	— —, Haken des Rostellums.	214
— —, Haken des Rostellums.	451	— —, Skolex.	214
— —, Querschnitt.	451	— —, Totalpräparat.	214
— <i>armata</i> n. sp., Totalpräparat.	354	<i>Polyonchobothrium polypteri</i> (Leydig), Proglottiden.	531. 533
— <i>bisaccata</i> n. sp., Haken des Rostellums.	445	— — —, Skolex, Querschnitt.	529
— —, Skolex.	445	— — —, weibliche Genitalgänge.	533
— —, Totalpräparat.	445	<i>Proleptus tortus</i> n. sp., Schwanzende, männliches. (Taf., Fig. 5.)	752
— <i>brasiliense</i> n. sp., Haken des Rostellums.	446	<i>Saccharomyces canis</i> , Ursache von Epithelwucherungen in der Lunge und Bronchen. (Taf.)	338
— <i>breviannulata</i> n. sp., Totalpräparat.	446	<b>Spirillen, Form.</b>	746
— <i>capillaroides</i> n. sp., Haken des Rostellums.	356	<i>Spirillum sputigenum</i> , Geißeln. (Taf., Fig. 14.)	821
— —, Totalpräparat.	356	<i>Spirochaete balanitidis</i> n. sp., Form. (Taf., Fig. 1—4, 12.)	821
— <i>elongata</i> n. sp., Totalpräparat.	450	— <i>buccalis</i> , Kernstab. (Taf., Fig. 5, 7, 8.)	821
— <i>flagellata</i> , n. sp., Geschlechtsorgane.	357	— —, undulierende Membran. (Taf., Fig. 6.)	821
— <i>lobata</i> n. sp., Proglottis.	353	— — <i>hominis</i> . (Taf., Fig. 13.)	821
— <i>papillata</i> n. sp., Totalpräparat.	358	— <i>dentium</i> , Form. (Taf., Fig. 9—11.)	821
— <i>pauciovata</i> n. sp., Skolex.	447	— Obermeyer, Färbung in Organschnitten.	493
— —, Totalpräparat.	447		
— <i>pellucida</i> n. sp., Haken des Rostellums.	440		

<i>Spirochaete pallida</i> in der Hornhaut des Kaninchens.	324	<i>Treponema pallidum</i> Schaudinn. Form.	746
— — im Mark bei Osteochondritis syphilitica. (Taf., Fig. 2.)	642	— — —, Kultur.	685
— — im Periost bei Osteochondritis syphilitica. (Taf., Fig. 1.)	642	<i>Trichosoma tenue</i> Duj., Ursache von Leberveränderungen bei <i>Erinaceus europaeus</i> .	747
— — in einer Schleimhautpapil. (Taf., Fig. 1—3.)	78	<i>Trypanosoma</i> , nach Verimpfung menschlichen Blutes beim Affen gefunden.	73
<i>Strongylus ovatus</i> v. Linstow n. sp., Kopfeinde.	648	<i>Trypanosomakrankheit</i> , menschliche, Temperaturkurve. (Taf.)	72
— — —, Larve.	650	<i>Uncinaria duodenalis</i> Dubini in der Haut von Meerschweinchen.	749
— — —, Oesophagus.	649	<i>Vaccineerreger</i> . (Taf.)	440
— — —, Schwanzende.	648		
<i>Taenia heteracantha</i> n. sp., Haken des Rostellums.	220		

258011







st.



1323



st.

